

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

# **APLICACIÓN CLÍNICA DE NUEVAS TÉCNICAS DE IMAGEN EN AMILOIDOSIS CARDÍACA POR TRANSTIRETINA**

**ESTHER GONZÁLEZ LÓPEZ**

Universidad Autónoma de Madrid

Madrid, 2015

Memoria de investigación presentada por

**Dra. Esther González López**

Para optar al grado de

**Doctor en Medicina**

**por la Universidad Autónoma de Madrid**

Trabajo dirigido por:

**Dr. Pablo García Pavía**

Profesor Honorario, Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Madrid

Médico Adjunto, Servicio de Cardiología

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda

y por

**Dr. Jesús González Mirelis**

Médico Adjunto, Servicio de Cardiología

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda.

La presente tesis ha sido realizada en la Sección de Insuficiencia Cardíaca y Cardiopatías Familiares del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda y en el Centro de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC).

(Madrid, España)



*La vocación mueve a la eficacia verdadera  
de los hombres. Todo lo que se hace sin vocación,  
por importante que parezca, se marchita como  
una flor. Todo lo que se hace con vocación,  
fructifica para siempre. Hay que hablar, por eso,  
incesantemente de la vocación.*

Gregorio Marañón

Vocación y ética, 1935

## AGRADECIMIENTOS

Después de un largo camino, al escribir las últimas frases de este trabajo, vuelvo la vista atrás y sólo puedo dedicarlas a agradecer a todos los que, de una forma u otra, han participado para que este proyecto se haga realidad, alcanzando una de las metas soñadas desde hace tiempo. Este reconocimiento es más importante si cabe en este proyecto que auna el trabajo a nivel hospitalario y en un centro de investigación, gracias a una excelente coordinación con otros profesionales y compañeros.

En primer lugar, mi agradecimiento al Dr. Pablo García Pavía, co-director de esta tesis, que me brindó la oportunidad de poner en marcha esta idea y me ha transmitido durante este tiempo el interés por las miocardiopatías y más concretamente por la amiloidosis cardíaca. Pero no sólo eso. Su enorme capacidad de trabajo, su infinita disposición por emprender nuevos proyectos y su ejemplo como profesional convencido de la importancia de la investigación con rigor científico y vocación traslacional, han sido un referente en los últimos años. Ha sido un honor poder trabajar y aprender a su lado. Gracias por la confianza depositada. Espero que la llegada a buen puerto de este trabajo constituya un motivo de satisfacción mutua.

Al Dr. Jesús González Mirelis, co-director de esta tesis, por contagiarme de su pasión por la resonancia magnética cardíaca y ofrecerme la oportunidad de conocer y adentrarme en el ámbito de la investigación cardiovascular en un centro internacional de prestigio. Su inagotable voluntad de docencia, convirtiendo lo más complejo en sencillo y su siempre favorable actitud han sido grandes apoyos en este camino.

Al Dr. Luis Alonso-Pulpón, Jefe del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario Puerta de Hierro y tutor de esta tesis, por su incondicional apoyo en todos los proyectos que emprendemos los que integramos o hemos formado parte del servicio o “familia” que él ha conseguido crear. Su figura como persona y cardiólogo siempre serán un ejemplo para el resto de mi trayectoria profesional.

Al Dr. Gonzalo Guzzo-Merello y a la Dra. María Gallego-Delgado, por participar en este proyecto y darle continuidad mientras realicé mi estancia en el Heart Hospital de Londres.

A los compañeros de la Sección de Insuficiencia Cardíaca y Trasplante Cardíaco, especialmente a la Dra. Marta Cobo y al Dr. Javier Segovia. Ha sido un privilegio formarme a su lado. Su labor asistencial diaria, marcada por una inagotable dedicación, humanidad y calidad en la atención a los pacientes, constituye motivo de aspiración.



Al Dr. Javier de Haro, médico adjunto del Servicio de Medicina Nuclear, por su gran predisposición a colaborar en este y otros proyectos. A las doctoras Belén Bornstein y Clara Salas, por su contribución en la realización de los estudios genéticos y el análisis anatomopatológico de las biopsias, respectivamente.

A la Dra. Isabel Millán, por su gran apoyo en el análisis estadístico, haciendo gala siempre de una inagotable paciencia y profesionalidad.

A los Dr. Muñoz (H. Juan Ramón Jiménez, Huelva), Dra. Galán (H. Clínico San Carlos), Dr. Buades (H. Son Llàtzer, Palma de Mallorca) y Dr. Muñoz-Blanco (H. Gregorio Marañón), integrantes del Grupo de Estudio y Tratamiento de la Polineuropatía Amiloidótica Familiar por Transtiretina (GETPAF-TTR), por su colaboración para que parte del proyecto haya sido posible.

A las enfermeras Ana Briceño y Maite Dubraska así como a los técnicos de imagen Braulio Pérez y Ángel Macías, por su atención a los pacientes y ayuda en la coordinación y extracción de muestras así como en la realización de los estudios de resonancia magnética.

Por último quiero agradecer y dedicar estas líneas a mi familia. Gracias a mis padres por haberme inculcado desde pequeña los valores de esfuerzo, superación y búsqueda de la excelencia. Sin estos y otros valores no hubiera llegado hasta aquí. Aunque ajenos al ámbito médico, vuestra trayectoria personal y profesional son modelos para mí. Muchas gracias por vuestro incondicional apoyo en los momentos de desaliento. Y a mi hermano. Por su leal ayuda y, simplemente, por estar ahí siempre.

Este trabajo, que se presenta para optar al grado de Doctor en Medicina: **APLICACIÓN CLÍNICA DE NUEVAS TÉCNICAS DE IMAGEN EN AMILOIDOSIS CARDÍACA POR TRANSTIRETINA**, se compone de dos estudios diferenciados en el campo de la Amiloidosis cardíaca por transtiretina.

Ambos trabajos se desarrollan de forma consecutiva en los capítulos 2 y 3 con los siguientes subtítulos:

1. PREVALENCIA DE AMILOIDOSIS SENIL EN PACIENTES INGRESADOS POR INSUFICIENCIA CARDÍACA CON FRACCIÓN DE EYECCIÓN CONSERVADA MEDIANTE EL EMPLEO DE GAMMAGRAFÍA CARDÍACA.

2. CORRELACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN EXTRACELULAR POR RESONANCIA MAGNÉTICA CARDÍACA CON LA PROGRESIÓN NEUROLÓGICA EN AMILOIDOSIS HEREDITARIA POR TRANSTIRETINA.

Este trabajo ha podido ser realizado gracias a financiación procedente de los siguientes proyectos de investigación:

- Fundación Mutua Madrileña. Proyecto de Investigación en Enfermedades Raras 2013. Determinación de volumen extracelular por resonancia magnética en la polineuropatía familiar amiloidea. IP: Dr. González Mirelis. Junio 2013-Junio 2015.
- Pfizer Investigator Initiated Research 2012. Prevalence of TTR senile cardiac amyloidosis among elderly patients with diastolic heart failure. IP: Dr. García-Pavía. 2012-2014.

Publicaciones y comunicaciones a congresos derivadas de este trabajo:

#### Artículos originales:

- González-López E, Gallego-Delgado M, Guzzo-Merello G, de Haro-del Moral FJ, Cobo-Marcos M, Robles C, Bornstein B, Salas C, Lara-Pezzi E, Alonso-Pulpón L, García-Pavía P. **Wild-type transthyretin amyloidosis as a cause of heart failure with preserved ejection fraction**. Eur Heart J. 2015; 36. *Ahead of print*.
- González-López E, Gallego-Delgado M, Guzzo-Merello G, Cobo-Marcos M, de Haro-del Moral FJ, Bornstein B, Salas C, Alonso-Pulpón L, García-Pavía P. **Characteristics of Senile cardiac amyloidosis – Removing a myth**. (En preparación)
- Gallego-Delgado M\*, González-López E\*, Muñoz F, Buades J, Galán L, Muñoz-Blanco JL, Ibáñez B, Mirelis JG, García-Pavía P. **Cardiac extracellular volume quantified by CMR detects amyloidotic cardiomyopathy and correlates with neurological impairment in TTR-familial amyloid polyneuropathy**. (En evaluación).

\*Ambos autores han contribuido por igual.

#### Comunicaciones a congresos:

- **Amiloidosis cardíaca relacionada con la transtiretina tipo salvaje (ATTRwt) como causa de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección conservada: Detección mediante gammagrafía cardíaca**. FJ de Haro del Moral, E. González López, M. Gallego-Delgado, G. Guzzo-Merello, Cobo-Marcos M, Alonso-Pulpón L,

García-Pavía P. Congreso Nacional de la Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular (SEMNM). 17-19 de Junio 2015. Burgos. Comunicación oral.

- **Prevalence of TTR Senile Cardiac Amyloidosis among elderly patients with diastolic heart failure.** Gonzalez-Lopez E, Guzzo-Merello G, Gallego-Delgado M, Cobo-Marcos M, Gonzalez Mirelis J, De Haro Del Moral J, Bornstein B, Salas-Antón C, Alonso-Pulpón LA, García-Pavía P. ESC CONGRESS 2014. 30 y 31 de Agosto-1-3 de Septiembre 2014. Barcelona. Comunicación Oral.

- **Prevalencia de Amiloidosis cardíaca senil en pacientes ancianos ingresados por insuficiencia cardíaca diastólica.** González-López E, Gallego-Delgado M, Guzzo Merello G, de Haro del Moral FJ, Bornstein B, Cobo Marcos M, García-Pavía P, Alonso-Pulpón LA. SEC 2014. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares. 30 y 31 de Octubre-1 de Noviembre 2014. Santiago de Compostela. Póster.

- **Detección de la afectación cardíaca mediante la cuantificación del volumen extracelular cardíaco por resonancia magnética en la amiloidosis TTR hereditaria.** Gallego-Delgado M, González-López E, Muñoz Beamud F, Sánchez-González J, Galán Dávila L, Ibáñez Cabeza B, González Mirelis J, García-Pavía P. SEC 2014. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares. 30 y 31 de Octubre-1 de Noviembre 2014. Santiago de Compostela. Comunicación oral.

- **Correlación de la afectación neurológica con el volumen extracelular cardíaco calculado mediante resonancia en la amiloidosis TTR hereditaria.** Gallego-Delgado M, González-López E, Buades Reinés J, Galán Dávila L, Muñoz Blanco JL, Ibáñez Cabeza B, González Mirelis J, García-Pavía P. SEC 2014. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares. 30 y 31 de Octubre-1 de Noviembre 2014. Santiago de Compostela. Hub-póster.

- **Cardiac extracellular volume quantified by cardiac magnetic resonance reflects degree of cardiac and neurological involvement in familial transthyretin amyloidosis.** Gallego-Delgado M, González-López E, Muñoz Beamud F, Buades J, Galán L, Muñoz Blanco JL, Sánchez González J, Ibáñez B, G. Mirelis J, García-Pavía P. ESC CONGRESS 2015. 29 de Agosto-2 de Septiembre 2015. Londres. Póster.

**Otros artículos y comunicaciones a congresos realizados en el transcurso de esta tesis doctoral:**

- Gallego-Delgado M, Gonzalez-Lopez E, Garcia-Guereta L, Ortega-Molina M, Gonzalez-Vioque E, Cobo-Marcos M, Alonso-Pulpon L, Garcia-Pavia P. **Adverse clinical course and poor prognosis of hypertrophic cardiomyopathy due to mutations in FHL1**. Int J Cardiol. 2015;191:194-197.
- Guzzo-Merello G, Domínguez F, González-López E, Cobo-Marcos M, Gómez-Bueno M, Fernández-Lozano I, Millán I, Segovia J, Alonso-Pulpón L, García-Pavía P. **Malignant Ventricular Arrhythmias in Alcoholic Cardiomyopathy**. Int J Cardiol. 2015;199:99-105.
- González-Mirelis J, García-Pavía P, Caverio MA, González-López E, Echavarria-Pinto M, Pastrana M, Segovia J, Oteo JF, Alonso-Pulpón L, Escaned J. **Resonancia magnética para la detección no invasiva de la enfermedad microcirculatoria asociada a la vasculopatía de alotrasplante: validación de la determinación intracoronaria**. Rev Esp Cardiol. 2015;68:571-578.
- Gallego-Delgado M, Monserrat L, Segovia J, Ruiz-Cano MJ, Brossa-Loidi V, Palomo J, Marzoa-Rivas R, Perez-Villa F, Salazar J, González-López E, Gomez-Diaz I, Padrón-Barthe L, Bornstein B, Lara-Pezzi E, Alonso-Pulpon LA, García-Pavía P. **Idiopathic restrictive cardiomyopathy is primarily a genetic disease**. (En evaluación).
- Villalba M, López-Olañeta M, González-López E, Padrón-Barthe L, Gómez-Salinerio JM, García-Pavía P, Ibáñez B, Jiménez-Borreguero LJ, Lara-Pezzi E. **Combined cardiac and pulmonary echocardiography for accurate assessment of heart failure in mice**. (En preparación).
- **Resonancia de estrés con dobutamina para la detección de enfermedad microvascular del injerto: Validación con velocidad de flujo intracoronario y medida de presión**. González Mirelis J, García-Pavía P, Caverio MA, González-López E, Echavarría-Pinto M, Segovia J, Oteo JF, Escaned J. SEC 2013. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares. 24-26 de Octubre 2013. Valencia. Póster.
- **Resonancia magnética cardíaca con dobutamina en una población de trasplantados cardíacos. Seguridad y viabilidad**. González Mirelis J, González-López E, Hernández Pérez FJ, Segovia Cubero J, Pastrana Ledesma MA, Oteo Domínguez JF, García-Pavía P, Alonso-Pulpón LA. SEC 2012. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares. 18-20 de Octubre 2012. Sevilla. Póster.

- **Myocardial native T1 relaxation times are highly dependent on the blood T1 values.** González-Mirelis J, Sánchez-González J, González-López E, Goirigolzarri-Artaza J, Gallego-Delgado M, García-Álvarez A, García-Ruiz JM, Fernández-Friera L, Fernández-Jiménez R, López-Martín JG, Sanz J, Fuster V, Ibáñez B. SCMR/EuroCMR 2015. 4-7 de Febrero 2015. Niza, Francia. Póster.
- **Tratamiento de la amiloidosis cardíaca AL: ¿Es el Bortezomib una alternativa eficaz?** Sayago Silva I, Krsnik I, Segovia Cubero J, González-López E, Domínguez Rodríguez F, Gómez Bueno M, Alonso-Pulpón LA. SEC 2014. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares. 30 y 31 de Octubre-1 de Noviembre 2014. Santiago de Compostela. Comunicación oral.
- **Factores pronósticos en la amiloidosis AL. ¿En qué pacientes no podemos demorar el inicio del tratamiento?** Sayago Silva I, González-López E, Domínguez Rodríguez F, Segovia Cubero J, Krsnik I, Gómez-Bueno M, Alonso-Pulpón LA. SEC 2014. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares. 30 y 31 de Octubre-1 de Noviembre 2014. Santiago de Compostela. Comunicación mini-oral.
- **¿Es necesaria la biopsia cardíaca para el diagnóstico de amiloidosis cardíaca AL? Análisis de la rentabilidad de las biopsias para la confirmación histológica de amiloide.** Sayago Silva I, Domínguez Rodríguez F, González-López E, Segovia Cubero J, Oteo Domínguez JF, Gómez Bueno M, Krsnik I, Alonso-Pulpón LA. SEC 2014. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares. 30 y 31 de Octubre-1 de Noviembre 2014. Santiago de Compostela. Hub-póster.

## ÍNDICE GENERAL

<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>19</b>
<b>1.1. Nuestra experiencia: El origen.....</b>	<b>20</b>
<b>1.2. Amiloidosis como Enfermedad sistémica.....</b>	<b>21</b>
1.2.1. Introducción.....	21
1.2.2. El proceso de Amiloidogénesis.....	23
1.2.3. Clasificación y tipos de Amiloidosis .....	30
1.2.4. Manifestaciones clínicas.....	37
1.2.5. Diagnóstico.....	40
1.2.6. Tratamiento.....	45
<b>1.3. Amiloidosis cardíaca.....</b>	<b>46</b>
<b>1.4. Amiloidosis cardíaca por Transtiretina.....</b>	<b>52</b>
1.4.1. Transtiretina.....	52
1.4.2. Amiloidosis Hereditaria por Transtiretina.....	54
1.4.3. Amiloidosis Senil.....	61
1.4.4. Diagnóstico de Amiloidosis por Transtiretina.....	64
1.4.4.1. El electrocardiograma en Amiloidosis cardíaca.....	67
1.4.4.2. El ecocardiograma en Amiloidosis cardíaca.....	69
1.4.4.3. Biomarcadores en Amiloidosis cardíaca por Transtiretina.....	74
1.4.4.4. Resonancia magnética cardíaca en Amiloidosis cardíaca.....	74
1.4.4.5. Gammagrafía nuclear en Amiloidosis cardíaca por transtiretina.....	85
1.4.5. Pronóstico de la Amiloidosis cardíaca por transtiretina.....	91
1.4.6. Tratamiento de la Amiloidosis cardíaca por transtiretina.....	92
1.4.6.1. Tratamiento de soporte.....	93

1.4.6.2. Tratamiento causal.....	96
1.4.6.3. Nuevos tratamientos.....	98
<b>1.5. Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección conservada.....</b>	<b>105</b>
<b>CAPÍTULO 2. PREVALENCIA DE AMILOIDOSIS SENIL EN PACIENTES INGRESADOS POR INSUFICIENCIA CARDÍACA CON FRACCIÓN DE EYECCIÓN CONSERVADA MEDIANTE EL EMPLEO DE GAMMAGRAFÍA CARDÍACA.....</b>	<b>113</b>
2.1. Objetivos.....	114
2.2. Hipótesis.....	114
2.3. Material y métodos.....	114
2.4. Resultados.....	120
2.5. Discusión.....	129
<b>CAPÍTULO 3. CORRELACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN EXTRACELULAR POR RESONANCIA MAGNÉTICA CARDÍACA CON LA PROGRESIÓN NEUROLÓGICA EN AMILOIDOSIS HEREDITARIA POR TRANSTIRETINA.....</b>	<b>136</b>
3.1. Objetivos.....	137
3.2. Hipótesis.....	137
3.3. Material y métodos.....	137
3.4. Resultados.....	142
3.5. Discusión.....	147
<b>CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES.....</b>	<b>151</b>
<b>CAPÍTULO 5. RESUMEN.....</b>	<b>153</b>
<b>CAPÍTULO 6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>158</b>



## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1.</b> Fibras de amiloide visualizadas con microscopio de fuerza atómica....	23
<b>Ilustración 2.</b> Proceso de secreción proteica en paciente heterocigoto para mutación en proteína precursora de amiloidosis.....	24
<b>Ilustración 3.</b> Tetrámero de transtiretina y localización de variantes en su estructura.....	26
<b>Ilustración 4.</b> Mecanismo propuesto para la formación de amiloide.....	29
<b>Ilustración 5.</b> Afectación sistémica por Amiloidosis.....	37
<b>Ilustración 6.</b> Afectación de partes blandas en Amiloidosis AL.....	39
<b>Ilustración 7.</b> Tinciones de muestras de biopsia endomiocárdica de paciente con Amiloidosis cardíaca hereditaria por transtiretina con Hematoxilina-Eosina y Tioflavina T.....	42
<b>Ilustración 8.</b> Tinciones de muestras de miocardio con Azul de Alcán y Rojo Congo.....	43
<b>Ilustración 9.</b> Inmunohistoquímica en muestras de biopsia endomiocárdica con anticuerpos.....	44
<b>Ilustración 10.</b> Ilustración esquemática de la distribución por órganos y la extensión del depósito de amiloide de los ocho tipos más frecuentes de amiloidosis sistémicas.....	47
<b>Ilustración 11.</b> Dos subtipos de amiloide en el mismo corazón.....	48
<b>Ilustración 12.</b> Autopsia de corazón con infiltración de amiloide.....	49
<b>Ilustración 13.</b> Sistema europeo de clasificación de miocardiopatías.....	50
<b>Ilustración 14.</b> Estructura del tetrámero de Transtiretina.....	53
<b>Ilustración 15.</b> Distribución mundial de Amiloidosis Hereditaria por Transtiretina.....	54
<b>Ilustración 16.</b> Análisis de secuenciación del gen TTR. Mutación Val30Met.....	55

<b>Ilustración 17.</b> Posible correlación genotipo-fenotipo en Amiloidosis hereditaria por Transtiretina.....	57
<b>Ilustración 18.</b> Depósitos de amiloide en el endoneuro en paciente con Polineuropatía amiloide hereditaria.....	65
<b>Ilustración 19.</b> ECG de 12 derivaciones en paciente con Amiloidosis cardíaca.....	68
<b>Ilustración 20.</b> Ecocardiograma de paciente con variante V122I y FA.....	70
<b>Ilustración 21.</b> Representación en 2D de los patrones de strain longitudinal.....	73
<b>Ilustración 22.</b> Resonancia magnética de dos pacientes con amiloidosis.....	77
<b>Ilustración 23.</b> Ejemplo de patrón de realce tardío transmural en paciente con Amiloidosis Senil. ....	78
<b>Ilustración 24.</b> Alteración de la cinética de Gd en Resonancia magnética cardíaca de paciente con Amiloidosis por transtiretina.....	81
<b>Ilustración 25.</b> Fórmula para cálculo de volumen extracelular (VEC).....	82
<b>Ilustración 26.</b> Volumen extracelular (VEC) en sujetos sanos y enfermos: Comparación entre grupo.....	82
<b>Ilustración 27.</b> Ejemplos de patrones de realce tardío en paciente con amiloidosis hereditaria por transtiretina y AL.....	84
<b>Ilustración 28.</b> Ejemplos del espectro de captación en Gammagrafía <sup>99m</sup> Tc-DPD.....	87
<b>Ilustración 29.</b> Ejemplos representativos del espectro de la captación de la gammagrafía <sup>99m</sup> Tc-DPD.....	88
<b>Ilustración 30.</b> TC-SPECT con captación miocárdica.....	89
<b>Ilustración 31.</b> Terapias en Amiloidosis por transtiretina.....	93
<b>Ilustración 32.</b> Cascada de amiloidogénesis bloqueada por la unión y estabilización de Tafamidis.....	100
<b>Ilustración 33.</b> Estructura bioquímica de Tafamidis.....	101
<b>Ilustración 34.</b> Algoritmo diagnóstico de Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada.....	108

<b>Ilustración 35.</b> Correlación ecocardiográfica de gammagrafía DPD positiva.....	116
<b>Ilustración 36.</b> Correlación histológica con gammagrafía DPD positiva.....	119
<b>Ilustración 37.</b> Distribución de la cohorte y diagrama de flujo de participación de pacientes.....	120
<b>Ilustración 38.</b> Algoritmo diagnóstico de amiloidosis cardíaca y diagrama de flujo...	139
<b>Ilustración 39.</b> Hallazgos en RMC y gammagrafía en portador asintomático de mutación y en pacientes con amiloidosis cardíaca.....	141
<b>Ilustración 40.</b> VEC miocárdico según estadio de Amiloidosis hereditaria por transtiretina.....	144
<b>Ilustración 41.</b> Precisión de VEC en el diagnóstico de amiloidosis cardíaca.....	146

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Inclusiones proteicas fibrilares en enfermedades neurodegenerativas y otros tipos de enfermedades.....	22
<b>Tabla 2.</b> Proteínas fibrilares amiloides y sus precursores en humanos.....	31
<b>Tabla 3.</b> Inclusiones intracelulares con composición bioquímica conocida, con o sin propiedades amiloideas.....	32
<b>Tabla 4.</b> Formas más frecuentes de amiloidosis sistémica.....	33
<b>Tabla 5.</b> Mutaciones en Amiloidosis Hereditarias.....	35
<b>Tabla 6.</b> Condiciones asociadas a Amiloidosis AA.....	36
<b>Tabla 7.</b> Red flags de los principales tipos de Amiloidosis.....	40
<b>Tabla 8.</b> Subtipos más frecuentes de Amiloidosis cardíaca.....	47
<b>Tabla 9.</b> Diagnóstico diferencial con Amiloidosis cardíaca.....	51
<b>Tabla 10.</b> Particularidades del inicio precoz vs. inicio tardío en Amiloidosis hereditaria por transtiretina y su curso clínico.....	58
<b>Tabla 11.</b> Estadíos de Polineuropatía amiloide por transtiretina según capacidad de deambulación.....	61
<b>Tabla 12.</b> Características principales y criterios diagnósticos de las tres formas más frecuentes de amiloidosis cardíaca.....	72
<b>Tabla 13.</b> Características clínicas, analíticas, electrocardiográficas y ecocardiográficas de los pacientes con insuficiencia cardíaca con función sistólica conservada incluidos en el estudio.....	121
<b>Tabla 14.</b> Características clínicas, epidemiológicas, analíticas, electrocardiográficas y ecocardiográficas según servicio de ingreso (Cardiología vs. Medicina Interna).....	123
<b>Tabla 15.</b> Características clínicas, epidemiológicas, analíticas, electrocardiográficas y ecocardiográficas según género en el grupo con gammagrafía <sup>99m</sup> Tc-DPD positiva.....	125

<b>Tabla 16.</b> Características clínicas, epidemiológicas, analíticas, electrocardiográficas y ecocardiográficas según el resultado de la gammagrafía con $^{99m}\text{Tc}$ -DPD.....	127
<b>Tabla 17.</b> Características clínicas, neurológicas y hallazgos de resonancia magnética cardíaca.....	143
<b>Tabla 18.</b> Correlaciones de VEC con diversos parámetros de estudio.....	145

---

# **APLICACIÓN CLÍNICA DE NUEVAS TÉCNICAS DE IMAGEN EN AMILOIDOSIS CARDÍACA POR TRANSTIRETINA**

---

# CAPÍTULO 1

---

## INTRODUCCIÓN

## 1. INTRODUCCIÓN.

### 1. 1. NUESTRA EXPERIENCIA: EL ORIGEN.

En el contexto de una dilatada experiencia clínica en la atención a pacientes con patologías cardíacas hereditarias y en la afectación cardíaca de enfermedades sistémicas, surgió el interés del grupo de la sección de Insuficiencia cardíaca y Cardiopatías Familiares del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda por la miocardiopatía relacionada con el depósito de amiloide, en todas sus formas<sup>(1)</sup>.

De forma coordinada con el Servicio de Hematología del Hospital Puerta de Hierro, se ha llevado a cabo un proyecto conjunto de manejo de pacientes afectados por Amiloidosis Primaria (AL), cuyos resultados han visto la luz recientemente<sup>(2)</sup>.

Más concretamente, la Amiloidosis hereditaria por mutación del gen transtiretina ha sido motivo de diversas publicaciones por este grupo en relación a la aproximación al estudio de dicha entidad<sup>(3)</sup>, el empleo de técnicas de imagen para su diagnóstico<sup>(4)</sup>, la repercusión de la afectación cardíaca, así como la importancia de un enfoque multidisciplinar<sup>(5)</sup>.

En cuanto a técnicas de imagen, el papel de la gammagrafía cardíaca en esta entidad surgió a partir de un hallazgo incidental y la demostración de amiloidosis cardíaca en necropsia.

Asimismo cabe destacar que a partir del año 2012, se incorporó al grupo de trabajo el Dr. González Mirelis, con una formación más específica en imagen cardíaca y concretamente en resonancia magnética cardíaca tras realizar una estancia en el Hospital Mount Sinai de Nueva York y en Berlín. Su dedicación parcial en investigación en imagen cardíaca en el Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC) ha permitido enfocar parte de los intereses del grupo hacia la aplicación de técnicas de imagen al estudio de las cardiopatías familiares y concretamente a la Amiloidosis cardíaca, desarrollando proyectos en este campo en colaboración con el CNIC.

Hasta hace poco tiempo, la mayoría de las publicaciones sobre amiloidosis cardíaca se habían centrado en los hallazgos en pacientes con amiloidosis AL. Sin embargo, mientras la proporción de pacientes con Amiloidosis AL ha permanecido estable en los últimos años, las referencias por pacientes con Amiloidosis TTR se han incrementado<sup>(6)</sup>, traducándose este hecho en un aumento de interés por este subtipo,



que se refleja en el número creciente de publicaciones sobre amiloidosis cardíaca por transtiretina.

## **1. 2. AMILOIDOSIS COMO ENFERMEDAD SISTÉMICA.**

### **1.2.1. INTRODUCCIÓN.**

El plegamiento de proteínas es importante en procesos celulares que incluyen desde el transporte, la transmisión de señales, la regulación génica y del ARN, la adhesión celular, reacciones metabólicas implicando diversas enzimas así como cambios en el citoesqueleto. En definitiva, para un correcto funcionamiento se requiere una proteína activa con una conformación normal.

En las células de mamífero, el plegamiento se inicia dentro de la ruta de secreción en el retículo endoplásmico (RE). La eficiencia del plegamiento requiere el uso de chaperonas y catalizadores de plegamiento. Una mutación en una proteína secretada, por ejemplo, conduce a una disminución de la eficiencia del plegamiento en el RE y a una disminución en la exportación. Las proteínas mal plegadas o mal ensambladas son retenidas por unión a chaperonas, dentro del proceso de degradación del RE<sup>(7)</sup>.

Sólo las proteínas que consiguen tener una correcta estructura nativa en el RE son exportadas. Además, la eficiencia de la secreción se correlaciona con la estabilidad termodinámica. Sin embargo, existen excepciones a la regla general<sup>(7)</sup>.

El riesgo de la agregación de proteínas, que conlleva la amenaza de toxicidad para las células, es minimizado por las secuencias correctas de proteínas que confieren las propiedades de estabilidad y rápida cinética de plegamiento. Ambas minimizan las concentraciones de proteínas con facilidad para la agregación. Sin embargo, ciertas proteínas, parecen requerir un alto grado de desorganización estructural en sus estados nativos estables para cumplir su función. Estas constituyen un interesante juego de la evolución molecular en el cual el sutil límite entre el riesgo de autoagregación y su sofisticada función se puede traspasar fácilmente. Las proteínas amiloideas son buenos ejemplos de ello.

*In vitro*, las variaciones en las condiciones del medio por cambio en el pH o adición de soluciones orgánicas conduce a un plegamiento parcial y a la consecuente formación de fibras proteicas. *In vivo*, un desplegamiento parcial puede ocurrir como

consecuencia de una disminución en la estabilidad de las proteínas por mutación, cambio local de pH en la membranas, estrés oxidativo o calor, mientras que el plegamiento parcial puede darse con la exposición de sustancias hidrofílicas<sup>(8)</sup>.

La patogénesis de todas las enfermedades por conformación incluye cambios que dan lugar a proteínas aberrantes con plegamientos ricos en estructura  $\beta$ , con una alta tendencia a formar agregados, resistentes a la proteólisis. Este tipo de enfermedades constituyen una muestra del hecho de que una proteína puede existir en más de una conformación, con distintas propiedades biológicas y que la función está mediada a través de cambios conformacionales<sup>(8)</sup>.

Diversas enfermedades se asocian a un mal plegamiento y conformación de proteínas, pudiendo coexistir diversas proteínas. Entre ellas, enfermedades neurodegenerativas bien conocidas como la enfermedad de Alzheimer, Parkinson o Huntington comparten la característica acumulación de agregados extracelulares de proteínas amiloides<sup>(8,9)</sup> (Tabla 1).

*Tabla 1. Inclusiones proteicas fibrilares en enfermedades neurodegenerativas y otros tipos de enfermedades.*

Enfermedad	Componente proteico	Inclusiones celulares
<b>NEURODEGENERATIVO</b>		
Alzheimer	tau, péptido A42 $\beta$	Ovillos neurofibrilares
Pick	tau	Cuerpos de Pick/citoplasmáticos
Parálisis progresiva supranuclear	tau, proteínas de choque térmico	Ovillos neurofibrilares
Demencia de cuerpos de Lewy	$\alpha$ -sinucleína	Cuerpos de Lewy/citoplásmicos
Parkinson	$\alpha$ -sinucleína, cristalinas	Neurofilamentos/citoplasmáticos
Huntington	Expansión de huntingtina	Inclusiones intranucleares
Ataxias espinocerebelosas	Expansión de ataxina 1,3,7	Inclusiones intranucleares
Encefalopatías espongiiformes	Proteínas priónicas, catepsina B	Orgánulos tipo endosoma
<b>AMILOIDOSIS SISTÉMICAS</b>		
Diabetes Mellitus Tipo 2	Amilina	
Reactiva a Hemodiálisis	$\beta$ -2 Microglobulina	
Reactiva	Amiloide A	
Fibrosis Quística	Proteínas CFTR	

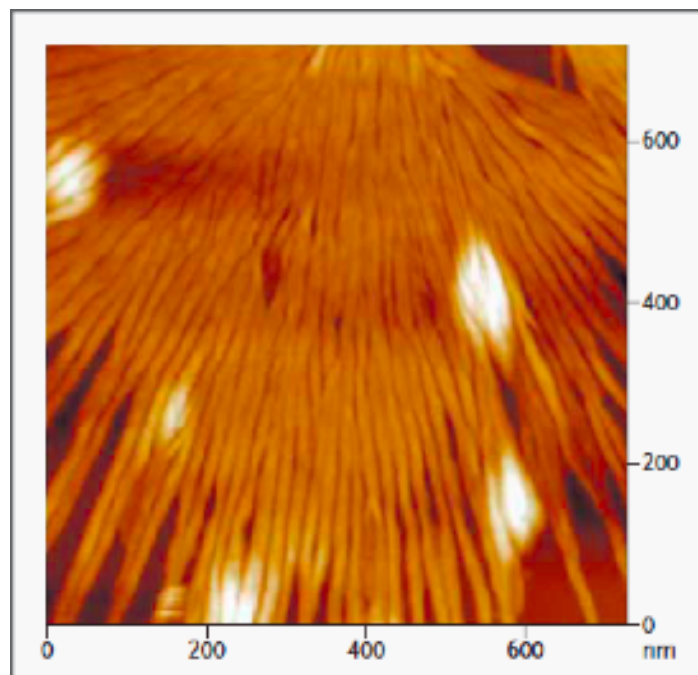
*Adaptada de: Zerovnik E. Amyloid-fibril formation. Proposed mechanisms and relevance to conformational disease. Eur J Biochem. 2002;269:3362-71<sup>(8)</sup>.*

### 1.2.2. EL PROCESO DE AMILOIDOGENESIS.

El término amiloide, empleado inicialmente en el campo de la botánica, fue utilizado por primera vez por Virchow en 1854 para designar la *córpora amilacea* en el cerebro por su color con la tinción de yodo y ácido sulfúrico. El concepto se expandió posteriormente para denominar a diversos depósitos tisulares con una apariencia similar al microscopio, incluyendo los depósitos de la enfermedad de Alzheimer o de la Diabetes Mellitus tipo 2<sup>(10)</sup>.

El primer criterio para la detección de amiloide *ex vivo* fue la birrefringencia con la tinción Rojo Congo bajo luz polarizada. Como segundo criterio, la microscopía electrónica demostró que todos los depósitos exhibían una estructura fibrilar similar, con ramas de fibras rígidas de 1000 a 1600 Å de longitud<sup>(8)</sup> y entre 7,5 y 10nm de diámetro<sup>(10-13)</sup> (*Ilustración 1*). Adicionalmente, se observaban otros elementos no fibrilares que incluían el componente P de amiloide sérico (SAP), proteoglicanos heparán sulfato y la apoproteína E.

*Ilustración 1. Fibras de amiloide visualizadas con microscopio de fuerza atómica. Fibras procedentes de muestra cardíaca de paciente con amiloidosis por AApo A-I.*



*Fuente: Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. N Engl J Med 2003;349:583–96<sup>(13)</sup>.*

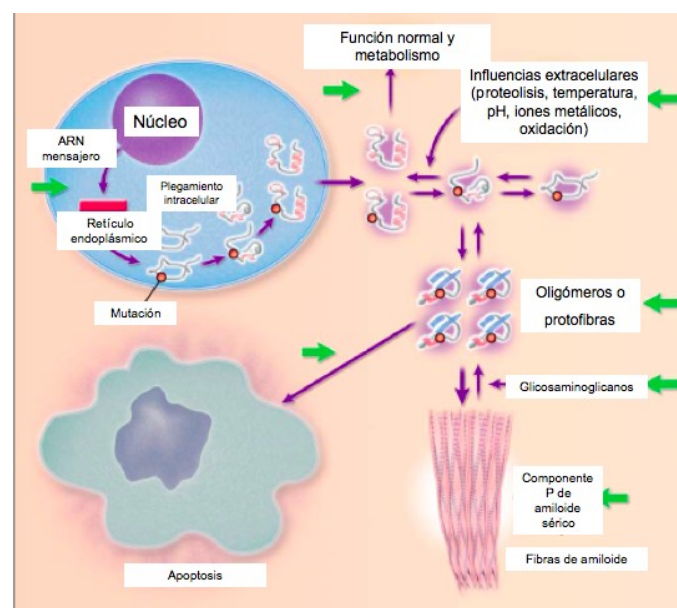
La amiloidosis se debe al depósito extracelular de fibrillas anormales e insolubles compuestas por diferentes subunidades de bajo peso molecular, entre 5 y 25KDa.

Estos depósitos proceden de proteínas solubles que, tras sufrir un cambio conformacional, adoptan una estructura común y predominantemente de hoja  $\beta$  plegada, alineadas de forma antiparalela<sup>(1,10,13)</sup>. Este depósito de fibrillas no suele tener consecuencias clínicas evidentes, pero en ocasiones se acompaña de cambios fisiopatológicos.

La conversión de la estructura de una proteína nativa a una estructura predominante en hoja  $\beta$  antiparalela es un proceso patológico estrechamente relacionado con el plegamiento fisiológico de proteínas<sup>(13)</sup>.

El plegamiento de nuevos polipéptidos se produce en una secuencia rápida de modificaciones conformacionales en el citoplasma. Según la “*Teoría de la energía del plegamiento*” el proceso sigue una vía de canalización en la cual los intermediarios progresivamente se mezclan en especies finales. Además, con una energía mínima similar a la obtenida por la proteína nativa, el polipéptido puede adquirir una forma “mal plegada” alternativa y relativamente estable con predisposición a la agregación. Una vez que el proceso se ha completado y la proteína nativa es secretada, muchas proteínas se encuentran en un equilibrio dinámico con una conformación parcial plegada y en ese estado, vuelven a recorrer la parte final de la vía de plegamiento, formando al final una proteína nativa o “mal plegada”<sup>(13)</sup> (*Ilustración 2*).

*Ilustración 2. Proceso de secreción proteica en paciente heterocigoto para mutación en proteína precursora de amiloidosis.*



Fuente: Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med* 2003;349:583–96<sup>(13)</sup>.

Los mecanismos moleculares a través de los cuales las diferentes proteínas sufren ese cambio conformacional son diversos e incluyen desde el aumento de producción como en la amiloidosis reactiva a la inflamación crónica, las mutaciones en el caso de las formas hereditarias, hasta el envejecimiento en la forma senil<sup>(13)</sup>. Estos mecanismos pueden actuar de forma independiente o en asociación. De forma adicional, el potencial amiloidogénico intrínseco de la proteína patogénica y otros factores sinérgicos pueden actuar.

Estudios con muchos precursores han demostrado que los agregados con la apariencia ultraestructural de fibras y las propiedades de tinción de amiloide *in vivo* pueden producirse en tubos de ensayo en ausencia de macromoléculas adicionales. Esto apoya que la fibrillogénesis es una propiedad intrínseca de los precursores de proteínas<sup>(14)</sup>.

La desestabilización es necesaria pero probablemente no suficiente para conferir la propensión amiloidogénica de la proteína. Se requieren otras características para la formación de fibras.

Estudios previos apuntaban a diferencias en la eficiencia de la secreción basadas en chaperonas y contenido de metabolitos en las chaperonas del RE en distintos tejidos como parte implicada en el proceso y la posibilidad del sistema de degradación del RE para prevenir el inicio precoz de la amiloidosis sistémica en la mayoría de tejidos<sup>(7)</sup>. En este sentido, las proteínas amiloideas y sus homólogos se sintetizan y secretan como proteínas nativas pero el sistema de control de calidad intracelular sería incapaz de reconocer y eliminar las mutantes patogénicas.

Fuera de la célula, las variantes amiloidogénicas alcanzan un estado de equilibrio entre el plegamiento total y las formas parcialmente plegadas. Todos los factores que perturban la estructura tridimensional (pH bajo, oxidación, aumento de temperatura, iones metálicos, osmolitos y proteólisis limitada) pueden alterar ese equilibrio hacia el estado del plegamiento parcial.

El precursor debe alcanzar una concentración local crítica para desencadenar la formación de fibras, un proceso incrementado por factores ambientales locales y por interacciones con componentes de la matriz extracelular<sup>(13)</sup>. Componentes comunes de los depósitos de amiloide como el componente P de amiloide sérico (SAP) o los glicosaminoglicanos pueden ejercer un efecto idéntico acelerando la transformación de un polipéptido soluble a un estado de fibra<sup>(13)</sup>.

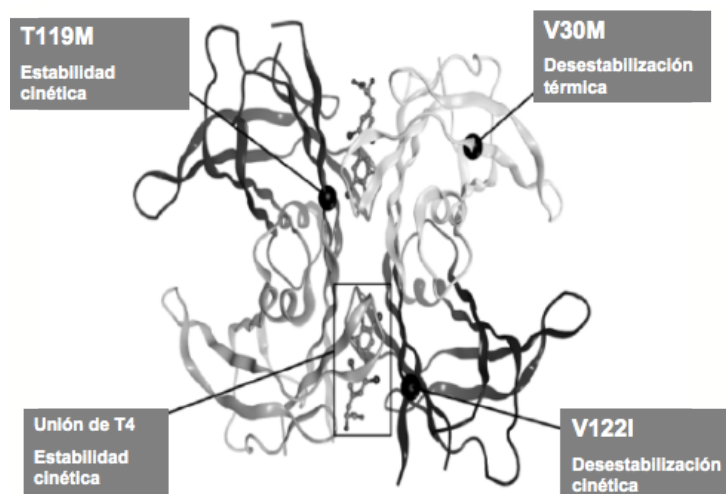
La diversidad de la distribución de los depósitos en distintos órganos y la especificidad de tejido son dos de las cuestiones más importantes sin resolver en la fisiopatología de la amiloidosis.

Hasta un cuarto de pacientes presentan afectación de sólo un órgano<sup>(13)</sup>. El lugar de depósito depende de la concurrencia de múltiples factores. La interacción específica con glicosaminos tisulares o los receptores de superficie celular como el receptor de glicación avanzada de productos (RAGE) pueden tener un papel clave<sup>(13)</sup>. Generalmente el depósito se produce a distancia respecto al lugar de síntesis aunque se ha demostrado el depósito a nivel del plexo coroideo en amiloidosis por transtiretina. El aclaramiento de la matriz extracelular y el aclaramiento específico del tejido pueden también contribuir a la órgano-especificidad de la amiloidosis<sup>(7)</sup>.

En cuanto a los mecanismos de daño tisular, aún no se conocen a fondo. La alteración de la arquitectura tisular puede provocar disfunción orgánica. Sin embargo, otros factores como la interacción con receptores locales como RAGE pueden influir.

Centrándonos en el caso concreto de la Amiloidosis por Transtiretina (TTR), objeto de esta tesis, ciertas mutaciones desestabilizan, bien termodinámicamente o bien cinéticamente, la estructura tetramérica de la proteína en la forma hereditaria<sup>(15)</sup>, originando el mal plegamiento, la agregación y por último, la formación de fibras (*Ilustración 3*).

*Ilustración 3. Tetrámero de transtiretina y localización de variantes en su estructura.*



*Adaptada de:* Ton V-K, Mukherjee M, Judge D.P. Transthyretin cardiac amyloidosis: Pathogenesis, treatments and emerging role in heart failure with preserved ejection fraction. Clin Med Insights Cardiol. 2015;8:39-44<sup>(15)</sup>.

El mecanismo por el cual se produce la formación de fibras de amiloide a partir de TTR en humanos no se conoce por completo. Estudios *in vitro* han indicado que el proceso debe requerir la disociación del tetrámero nativo en monómeros, siendo éste el paso limitante para la agregación y la consecuente formación de fibras, presumiblemente también *in vivo*. Un cambio de conformación de dichos monómeros mediante mal plegamiento permite la formación de agregados solubles que se hacen insolubles a medida que crecen (protofilamentos) y consecuentemente los agregados insolubles se convierten en fibras por la agregación lateral de cuatro protofilamentos, en un proceso de polimerización en cascada<sup>(15-18)</sup>.

En el caso concreto de la Amiloidosis Senil, consecuencia del depósito de proteína TTR nativa, puede que existan factores que prevengan el depósito de fibras de forma precoz y que estos factores se hagan menos efectivos con el envejecimiento o de forma alternativa, que otros mecanismos que promueven la amiloidogénesis se conviertan en activos con la edad<sup>(19)</sup>. En este sentido, se ha estudiado si las modificaciones oxidativas relacionadas con la edad pueden jugar un papel en el inicio de esta forma de enfermedad a nivel celular<sup>(17)</sup>.

Además de la alteración estructural de los depósitos de amiloide en los tejidos, los datos de modelos trasgénicos, líneas celulares y muestras humanas de nervios periféricos apuntan a que los intermediarios oligoméricos producen daño tisular mucho antes de que se pueda detectar el depósito. Más allá de eso, las necropsias de pacientes portadores de la mutación más frecuente en Amiloidosis hereditaria por TTR, Val122Ile, muestran atrofia de miocitos y reemplazo de miocitos por depósitos de TTR, sugiriendo que la pérdida celular juega un papel en la progresión de la enfermedad<sup>(15)</sup>.

Se ha evaluado la citotoxicidad de los distintos elementos de la cadena de amiloidosis en cultivos celulares e *in vivo*. En una línea celular de neuroblastoma, un estudio demostró que los monómeros de TTR y/o los oligómeros procedentes de TTR mutada que formaban agregados de 6 subunidades como máximo (<100KDa) eran la especie más citotóxica<sup>(18)</sup>. Este efecto tóxico, mediado por la inducción de apoptosis, podría ser bloqueado por catalasas, indicando un mecanismo dependiente de radicales libres de oxígeno. Las fibras maduras y los agregados solubles mayores a 100kDa de pacientes con amiloidosis hereditaria, contrariamente, no eran responsables de apoptosis por lo que la toxicidad parece dependiente del estado de agregación<sup>(20)</sup>. Según esta teoría,

los depósitos de fibras maduros actuarían como reservorios inactivos que se encuentran en un equilibrio con agregados potencialmente tóxicos.

Los efectos citotóxicos fueron vistos tras la incubación de TTR mutada en líneas celulares de neuroblastoma pero no con la forma nativa de TTR. Esta diferencia en la citotoxicidad puede explicarse por la diferente estabilidad del tetrámero de las dos proteínas, la mutada y la nativa, siendo esta última más estable y por tanto menos proclive a formar monómeros.

Posteriormente, en cultivos celulares de cardiomiocitos, se constató que la estabilización de TTR mediante pequeñas moléculas que se unían al lugar de acoplamiento de tiroxina (T4), prevenía la citotoxicidad, indicando de nuevo que el tetrámero en sí mismo no es citotóxico. En ese mismo estudio, se observó que el mecanismo por el que TTR induce muerte celular incluye la activación de caspasas y la formación de superóxido<sup>(16)</sup>.

Para el estudio de la fisiopatología y los factores que fomentan o inhiben la formación de Amiloidosis TTR tanto en su forma Senil como hereditaria se han empleado diversos modelos animales, reportados en la literatura.

El primer modelo murino de Amiloidosis Senil fue publicado en 2001<sup>(19)</sup>. En este modelo, se encontró depósito de TTR humana íntegra, no fibrilar y Rojo Congo negativo en el miocardio y en el parénquima renal a los 18 meses de vida. Además, el 20% de los animales mayores de 18 meses presentaban depósitos idénticos a los de la Amiloidosis Senil, demostrando la utilidad del modelo. Los depósitos miocárdicos eran múltiples, ventriculares y de aparición tardía en la edad adulta de los animales. Los depósitos negativos para la tinción Rojo Congo eran análogos a los de la amiloidosis AL en humanos, pudiendo tratarse de un estadio pre-amiloide intermedio. Los datos de este modelo sugieren que las alteraciones en la producción hepática de chaperonas o del aclaramiento de proteosomas de proteínas mal plegadas puede ser el determinante por el que se inicie el depósito de amiloide<sup>(19)</sup>.

Existen diversos modelos animales de Amiloidosis Hereditaria por Transtiretina. El más estudiado implica la mutación Val30Met. En éste, a nivel cardiovascular, el depósito se iniciaba a nivel subendocárdico y en áreas superficiales del miocardio. A los 24 meses de vida se observaba depósito en áreas extensas del miocardio. Estos hallazgos presentaban una adecuada correlación con las necopsias de los pacientes. A nivel microscópico, los miocitos mostraban atrofia y cambios degenerativos por depósitos masivos de amiloide<sup>(21)</sup>.



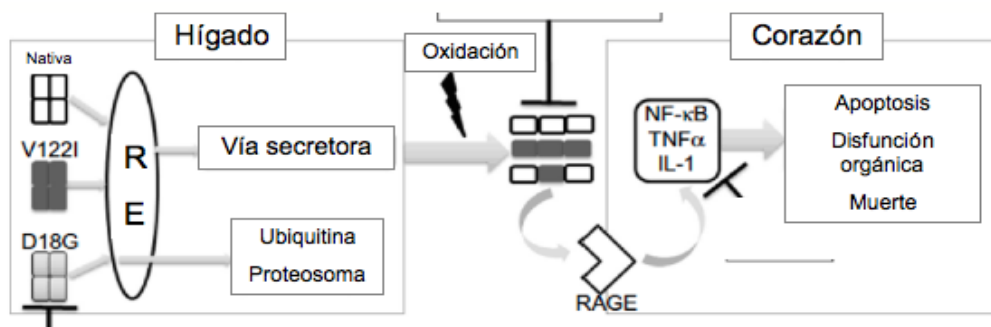
Sin embargo, a pesar de los avances, múltiples preguntas quedan por resolver en cuanto a los mecanismos moleculares subyacentes de la enfermedad, la órgano-especificidad, el predominio en el género masculino y las diferencias en la edad de inicio.

La respuesta a la incógnita de la severidad podría estar en la eficiencia de la secreción de proteínas por el hígado. A pesar de la inestabilidad estructural, la TTR mutada se secretaría con la misma eficiencia que la TTR nativa si posee estabilidad termodinámica y un perfil cinético lo suficientemente favorable como para escapar a la maquinaria de control del plegamiento de proteínas. También podría hacerlo si se estabiliza por la unión a un ligando como la T4.

Dado que el depósito extracelular de TTR precipita una respuesta de estrés intracelular de igual modo a lo observado en enfermedad de Alzheimer, se cree que debe existir un receptor de membrana para TTR o al menos una interacción entre TTR y una molécula transmembrana que precipite una cascada de señales. En estudios con muestras de nervio periférico y pulmonares de pacientes con mutación Val30Met se ha observado que tanto el tetrámero sin ligandos como las fibras no plegadas se han unido al receptor de glicación avanzado (RAGE), un *scavenger* o receptor de recogida de la superfamilia de las inmunoglobulinas capaz de unirse a proteínas ricas en hoja  $\beta$  plegada. La unión a RAGE promueve la activación del factor de necrosis  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), la traslocación nuclear y la activación de cascadas proinflamación que dan lugar finalmente a daño oxidativo y muerte celular (*Ilustración 4*).

*Ilustración 4. Mecanismo propuesto para la formación de amiloide.*

*TTR nativa y mutada, sintetizadas en el hígado, deben pasar el control de calidad del RE para ser secretadas. Variantes altamente inestables como Asp18Gly (D18G) son degradadas directamente por el sistema Ubiquitina-proteosoma. Las fibras de amiloide se unen a RAGE, desencadenando señales intracelulares que dan lugar a apoptosis celular, disfunción cardíaca y muerte.*



Adaptada de: Ton V-K, Mukherjee M, Judge D.P. Transthyretin cardiac amyloidosis: Pathogenesis, treatments and emerging role in heart failure with preserved ejection fraction. Clin Med Insights Cardiol. 2015;8:39-44<sup>(15)</sup>.

Las fibras extracelulares han demostrado provocar una respuesta de mal plegamiento de proteínas a nivel intracelular, disminuyendo la actividad proteosómica y reduciendo finalmente la protección celular frente al estrés oxidativo.

En cuanto a la especificidad de órgano, no se ha encontrado hasta la fecha un receptor específico para TTR a nivel cardíaco.

Por último, dos hipótesis explicarían la edad-dependencia. Por un lado, la disminución de la función tiroidea en pacientes ancianos, aumentaría la susceptibilidad de TTR para plegarse de forma incorrecta cuando los niveles de sus ligando naturales bajan. Por otro, la oxidación de proteínas podría sufrir un proceso de degeneración con la edad de tal forma que TTR nativa y mutada oxidadas sean más citotóxicas que sus homólogos no oxidados<sup>(15)</sup>.

### 1.2.3. CLASIFICACIÓN Y TIPOS DE AMILOIDOSIS.

A pesar de que se considera a la Amiloidosis sistémica una enfermedad rara, se estima que su incidencia se encuentra entorno a los 9 casos por millón de habitantes y año<sup>(22)</sup>, con una tasa anual comparable a la de la Leucemia mieloide crónica y la enfermedad de Hodking<sup>(23)</sup>.

Se conocen hasta el momento 31 proteínas en humano capaces de producir depósitos amiloides en distintos tejidos del organismo. De ellas, dos son yatrogénicas en la naturaleza y nueve se han identificado también en animales<sup>(10)</sup> (*Tabla 2*).

Tabla 2. Proteínas fibrilares amiloides y sus precursores en humanos.

Fibra proteica	Precursor de proteína	Sistémica o Localizada	Adquirida o Hereditaria	Órganos diana
AL	Cadenas ligeras Inmunoglobulinas	S, L	A, H	Todos excepto sistema nervioso central
AH	Cadenas pasadas Inmunoglobulinas	S, L	A	Todos excepto sistema nervioso central
AA	Amiloide sérico A (Apo)	S	A	Todos excepto sistema nervioso central
ATTR	- Transtiretina nativa	S	A	Corazón, ligamentos, membrana sinovial
	- Variantes transtiretina	S	H	Corazón, leptomeninges, sistema nervioso periférico y autónomo, ojos
A $\beta$ 2M	- $\beta$ 2-microglobulina nativa	L	A	Sistema músculoesquelético
	- $\beta$ 2-microglobulina mutada	S	H	Sistema nervioso autónomo
AApoAI	Variantes Apolipoproteína A I	S	H	Corazón, hígado, riñón, piel
AApoAII	Variantes Apolipoproteína A II	S	H	Riñón
AApoAIV	Apoteína nativa	S	A	Médula renal
AGel	Variantes Gelsolina	S	H	Córnea, sistema nervioso periférico
ALys	Variantes Lisozima	S	H	Riñón
ALECT2	Factor 2 leucocítico quimiotáctico	S	A	Riñón
AFib	Variantes Fibrinógeno $\alpha$	S	H	Riñón
ACys	Variantes Cistatina C	S	H	Sistema nervioso periférico, piel
ABri	Variantes ABriPP	S	H	Sistema nervioso central
ADan	Variantes ADanPP	L	H	Sistema nervioso central
A $\beta$	- Precursor proteína A $\beta$ nativa	L	A	Sistema nervioso central
	- Variante precursor proteína A $\beta$	L	H	Sistema nervioso central
APrP	- Proteína priónica nativa	L	A	Enfermedad Creutzfeldt-Jakob
	- Variantes proteína priónica	L	H	Enfermedad Creutzfeldt-Jakob, Insomnia Fatal
ACal	(Pro)calcitonina	L	A	Tumores células C tiroideas
AIAPP	Polipéptido Amiloide Aislado	L	A	Insulinomas
AANF	Péptido natriurético auricular	L	A	Aurículas
APro	Prolactina	L	A	Prolactinomas pituitarios
AIns	Insulina	L	A	Iatrogénico, inyecciones locales
ASPC	Surfactante pulmonar	L	A	Pulmón
AGal7	Galectina 7	L	A	Piel
ACor	Córneodesmina	L	A	Epitelio corneal, folículos pilosos
AMed	Lactaderina	L	A	Aorta media
Aker	Queratoepitelina	L	A	Córnea
ALac	Lactoferrina	L	A	Córnea
AOAAP	Proteína odontológica ameloblástica	L	A	Tumores odontogénicos
ASem1	Semenogelina 1	L	A	Vesícula seminales
AEnf	Enfuvitida	L	A	Yatrogénica

Adaptada de: Sipe JD, Benson MD, Buxbaum JN, Ikeda S, Merlini G, Saraiva MJ, Westermark P. Nomenclature 2014: Amyloid fibril proteins and clinical classification of the amyloidosis. *Amyloid*. 2014;21:221-4<sup>(10)</sup>.

Además, algunas inclusiones proteicas intracelulares comparten propiedades con el amiloide como la estructura fibrilar en hoja  $\beta$  plegada, la tinción con Rojo Congo y la birrefringencia verde. Se las denomina “amiloides intracelulares”<sup>(10)</sup> (Tabla 3).

**Tabla 3. Inclusiones intracelulares con composición bioquímica conocida, con o sin propiedades amiloideas.**

Inclusión	Localización	Proteína	Enfermedades asociadas
Cuerpos de Lewy	Neuronas, intracitoplasmáticos	$\alpha$ -sinucleína	Parkinson
Cuerpos de Huntington	Neuronas, intranucleares	Poliq. expandida de Huntingtina	Huntington
Cuerpos de Hialino	Neuronas	Actina	Trastornos neurodegenerativos
Cuerpos de Collins	Neuronas	Neuroserpina	Formas de Demencia familiar presenil
No especificados	Neuronas, diferentes tipos celulares	Ferritina	Formas de trastornos neurodegenerativos familiares
Ovillos neurofibrilares	Neuronas, intracitoplasmáticos	Tau	Alzheimer, Demencia frontotemporal, envejecimiento, otras condiciones cerebrales

Adaptado de: Sipe JD, Benson MD, Buxbaum JN, Ikeda S, Merlini G, Saraiva MJ, Westermarck P. Nomenclature 2014: Amyloid fibril proteins and clinical classification of the amyloidosis. *Amyloid*. 2014;21:221-4<sup>(10)</sup>.

Depósitos intracelulares constituidos por oligómeros pre-amiloidóticos solubles (OPA) han sido encontrados en un modelo murino transgénico de miocardiopatía por desmina obtenido por mutación en  $\alpha$ B-cristalina. Los datos sugieren que OPA pueden jugar un papel en el desarrollo de muerte celular de los miocitos. Su presencia se relacionó con pérdida de función e insuficiencia cardíaca (IC). Se han encontrado además, altos niveles de OPA intracelular en muestras de pacientes con IC de diversas etiologías y patogénesis, pero su papel real requiere de más estudios<sup>(9)</sup>.

Fue a mediados de los años 70 cuando la diversidad química de las proteínas de amiloide llevó a la creación de un *Simposium Internacional de Amiloidosis* para configurar una nomenclatura sistematizada. Desde entonces, las normas para la nomenclatura y clasificación del amiloide y la amiloidosis se han ido actualizando y recientemente han sido publicadas en 2014 por el *Nomenclature Committee of the International Society for Amyloidosis*<sup>(10)</sup>.

Se conocen en la actualidad 15 formas de amiloidosis sistémica, que se clasifican según la naturaleza bioquímica de la proteína que forma las fibrillas y el precursor amiloide. De ellas, cinco tipos explican las formas del 99% de los pacientes y concentran la mayoría de las consultas<sup>(24)</sup> (Tabla 4).

Tabla 4. Formas más frecuentes de amiloidosis sistémica.

Tipo amiloidosis	Principal lugar síntesis	Corazón	Riñón	Hígado	Sistema nervioso periférico	Sistema nervioso autónomo	Tejidos blandos
AL	Médula ósea	++	++	+	+	+	+
ATTR Hereditaria	Hígado	++	±	-	++	+	-
AApo A-I hereditaria	Hígado, tracto gastrointestinal	++	+	++	-	-	-
AA	Hígado	±	++	+	-	+	-
Senil	Hígado	++	-	-	-	-	-

Adaptado de: Palladini G1, Merlini G. Systemic amyloidoses: what an internist should know. *Eur J Intern Med.* 2013;24:729-39<sup>(24)</sup>.

Según el órgano afectado, las amiloidosis se clasifican en formas sistémicas o localizadas<sup>(1)</sup>. En las formas sistémicas, el depósito se observa a nivel de múltiples órganos, en las paredes vasculares y en el tejido conectivo, dando lugar a signos y síntomas sistémicos.

En cuanto a nomenclatura cabe también destacar la diferencia entre amiloidosis hereditaria, resultado de una mutación en el gen de una proteína y la amiloidosis familiar en las que la mutación se produce en genes que no expresan proteínas amiloides, como en la Amiloidosis AA<sup>(10)</sup>.

Entre las formas más frecuentes de amiloidosis destacan:

#### **Amiloidosis Primaria (AL).**

La amiloidosis AL se ha considerado la forma de amiloidosis sistémica más frecuente en países desarrollados<sup>(1)</sup>. Constituye hasta el 75% de los pacientes en algunos centros de referencia de amiloidosis<sup>(24)</sup>. Sin embargo, sólo una pequeña proporción de cadenas ligeras son amiloidogénicas. De hecho, sólo el 12-15% de los pacientes con mieloma múltiple presentan amiloidosis AL<sup>(13)</sup>.

En amiloidosis AL la proteína patogénica es una cadena ligera monoclonal producida generalmente por un clon de células plasmáticas tipo B (mieloma, linfoma, macroglobulinemia, etc)<sup>(1)</sup>. La concentración de estas cadenas ligeras así como distintas mutaciones están involucradas en su patogénesis.

Tanto la observación del incremento de la presión telediastólica antes de la formación de los depósitos en modelos animales de ratón a los que se les administran cadenas

ligeras de pacientes con amiloidosis AL como la mejoría de la función cardíaca al reducirse la concentración de cadenas ligeras tras quimioterapia, indican que el daño cardíaco se produce de forma primaria por un efecto tóxico directo de las cadenas ligeras circulantes<sup>(24)</sup>. Esto explicaría además por qué los pacientes mejoran clínicamente tras quimioterapia en ausencia de evidencia de regresión del depósito de amiloide. Esta hipótesis se apoya en la evidencia de la cardiotoxicidad y la mortalidad precoz en modelos con pez cebra de estudios más recientes<sup>(25)</sup>. En cultivos de cardiomiocitos, se ha constatado una reducción del estado *redox*, inducción de estrés oxidativo y alteración de la contracción como efecto citotóxico en amiloidosis AL. Se ha comprobado que estos efectos eran causados de forma directa por las cadenas ligeras y de forma independiente al depósito de fibras<sup>(26,27)</sup>.

Algunas características estructurales están relacionadas con la amiloidogénesis: el isótopo  $\lambda$  y las regiones variables de la familia homóloga V $\lambda$ VI<sup>(13)</sup>. Características estructurales específicas de las cadenas ligeras determinan la especificidad por órganos. Tres genes  $\nu\lambda$ , IGLV2-14, IGVL6-57 e IGLV3-1 codifican el 60% de las cadenas ligeras. Las cadenas ligeras de la familia  $\nu\lambda$  se asocian casi de forma invariable a amiloidosis con afectación renal<sup>(28-30)</sup> y el gen  $\nu\lambda$  IGLV1-44 afecta de forma preferente al corazón<sup>(31)</sup>.

#### ***Amiloidosis Hereditarias.***

Tres tipos de anomalías genéticas se han identificado en relación con las proteínas amiloidóticas: polimorfismos, mutaciones y modificaciones postraslacionales determinadas genéticamente<sup>(1)</sup>.

Entre las amiloidosis hereditarias podemos encontrar las causadas por mutaciones en los genes en transtiretina (ATTR o FAP-TTR), apolipoproteína A-I y apoproteína A-II, fibrinógeno, lisozima, gelsolina y cistatina C<sup>(32,33)</sup>, siendo la más frecuente la causada por mutaciones en TTR (<http://amyloidosismutations.com/mut-attr.php>) (Tabla 5).

Tabla 5. Mutaciones en Amiloidosis Hereditarias.

Proteína	Mutación	Síntomas clínicos
<b>Transtiretina</b>	> 80	Neuropatía, miocardiopatía, neuropatía, opacidades vítreas
<b>Apolipoproteína A-I</b>	Gly26Arg Leu60Arg Trp50Arg Del60-71 Del70-72 Leu90Pro Arg173Pro Leu174Ser Leu178His	Neuropatía, nefropatía Nefropatía Nefropatía Hepatopatía Nefropatía Miocardiopatía, síntomas laríngeos y cutáneos Miocardiopatía, síntomas laríngeos y cutáneos Miocardiopatía Miocardiopatía, síntomas laríngeos y cutáneos
<b>Apolipoproteína A-II</b>	Stop78Gly Stop78Ser	Nefropatía Nefropatía
<b>Fibrinógeno</b>	Arg554Leu Glu526Val Stop548Ile (4904delG) Stop548Ile (4897delT)	Nefropatía Nefropatía Nefropatía Nefropatía
<b>Lisozima</b>	Ile56Thr Trp64Arg Asp67His	Neuropatía, petequias Nefropatía Nefropatía
<b>Gelsolina</b>	Asp187Asn Asp187Tyr	Neuropatía, distrofia corneal reticular Neuropatía
<b>Cistatina C</b>	Leu68Gln	Hemorragia cerebral

Adaptado de: Saraiva MJ. Sporadic cases of hereditary systemic amyloidosis. *N Engl J Med.* 2002; 346:1818-9<sup>(33)</sup>.

Apo A-I es la principal constituyente de las lipoproteínas de alta densidad. Se sintetiza tanto en el hígado como en el intestino y se conocen 19 mutaciones en su gen, localizado en el cromosoma 11<sup>(34)</sup>. La Amiloidosis AApo A-I se manifiesta generalmente como una colestasis hepática asintomática, insuficiencia renal e hipogonadismo. Algunas mutaciones pueden causar miocardiopatía e insuficiencia cardíaca<sup>(24)</sup>. El remodelado proteolítico juega un papel importante en la determinación de la propensión amiloidótica de las variantes Apo A-I<sup>(24)</sup>.

#### **Amiloidosis reactiva o secundaria.**

En la amiloidosis reactiva o AA, las fibras están formadas por fragmentos proteolíticos de la proteína amiloide A de fase aguda. Esta forma constituye una complicación a largo plazo de una diversidad de trastornos inflamatorios (Tabla 6), por lo que es más prevalente en países en desarrollo<sup>(32)</sup>. Sin embargo, la presencia de una entidad inflamatoria subyacente no es obligatoria para su desarrollo<sup>(32)</sup>.

Tabla 6. Condiciones asociadas a Amiloidosis AA.

Condiciones	Enfermedades
Artritis inflamatorias	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Artritis reumatoide</li> <li>- Espondilitis anquilopoyética</li> <li>- Enfermedad de Still del adulto</li> <li>- Artritis Juvenil idiomática</li> <li>- Artritis psoriásica</li> <li>- Gota</li> </ul>
Enfermedades intestinales inflamatorias	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enfermedad de Crohn</li> <li>- Colitis ulcerosa</li> </ul>
Vasculitis sistémicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enfermedad de Behcet</li> <li>- Panarteritis nodosa</li> <li>- Arteritis de células gigantes</li> <li>- Arteritis de Takayasu</li> <li>- Polimialgia reumática</li> </ul>
Enfermedades autoinmunes hereditarias	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fiebre mediterránea familiar</li> <li>- Síndrome de Muckle-Wells</li> <li>- Síndrome de Hiperinmunoglobulinemia D</li> </ul>
Neoplasias	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enfermedad de Castleman</li> <li>- Linfoma de Hodgkin</li> <li>- Macroglobulinemia de Waldestrom</li> <li>- Adenoma hepatocelular</li> <li>- Carcinoma renal</li> <li>- Adenocarcinoma pulmonar</li> <li>- Adenocarcinoma intestinal</li> <li>- Mesotelioma</li> <li>- Síndrome de Schnitzler</li> </ul>
Infecciones crónicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Osteomielitis</li> <li>- Tuberculosis</li> <li>- Lepra</li> <li>- Pielonefritis</li> <li>- Enfermedad de Whipple</li> </ul>
Condiciones con predisposición a infecciones crónicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bronquiectasias</li> <li>- Úlceras cutáneas crónicas</li> <li>- Fibrosis quística</li> <li>- Epidermolisis bullosa</li> <li>- Adictos a drogas por vía parenteral</li> <li>- Bypass yeyunoileal</li> <li>- Paraplejia</li> </ul>
Inmunodeficiencias hereditarias y adquiridas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inmunodeficiencia común variable</li> <li>- Hipogammaglobulinemia</li> <li>- Agammaglobulinemia ligada al cromosoma X</li> <li>- Neutropenia cíclica</li> <li>- Infección por VIH/Síndrome por inmunodeficiencia adquirida</li> </ul>
Otras	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Obesidad</li> <li>- Sarcoidosis</li> </ul>

Adaptado de: Palladini G1, Merlini G. Systemic amyloidoses: what an internist should know. Eur J Intern Med. 2013;24:729-39<sup>(24)</sup>.

La inflamación precipita la producción de citoquinas, especialmente interleuquinas IL-1, IL-6 y TNF  $\alpha$ , que a su vez incrementan la síntesis hepática de la proteína amilode



A. Una concentración elevada y persistente de ésta es requisito para originar amiloidosis, pero no todos los pacientes que presentan enfermedades inflamatorias crónicas desarrollan amiloidosis AA por lo que influyen otros factores.

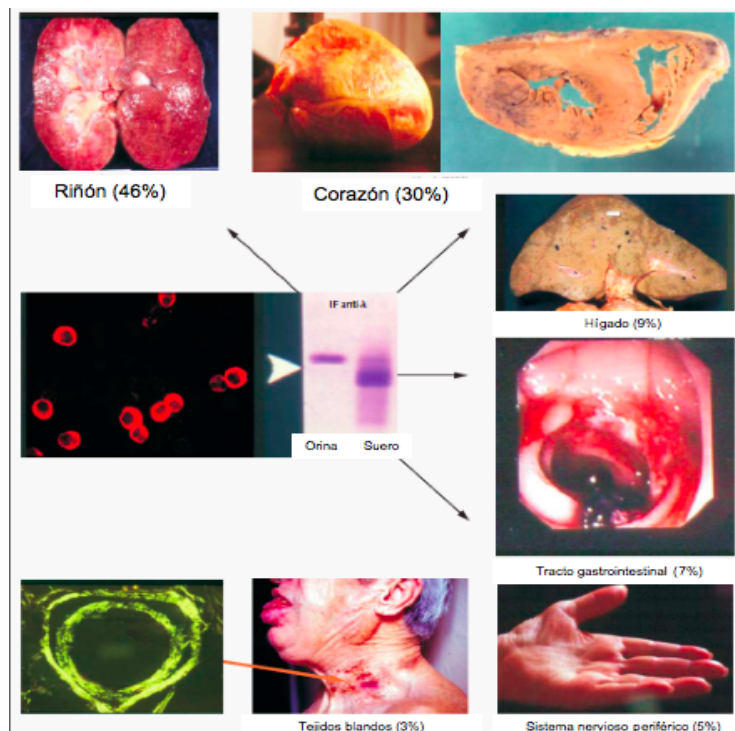
El factor mejor caracterizado es el genotipo SAA1. El genotipo SAA1.1 en población caucásica y SAA1.3 en población japonesa se asocian a una mayor incidencia y presentación precoz de amiloidosis AA.

Su incidencia está en descenso, como reflejo de mejores tratamientos para las enfermedades reumatológicas con agentes biológicos.

#### 1.2.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

En cuanto al cuadro clínico de la Amiloidosis, es variable y depende de la naturaleza bioquímica de la proteína fibrilar y el órgano afectado (*Ilustración 5*).

*Ilustración 5. Afectación sistémica por Amiloidosis.*

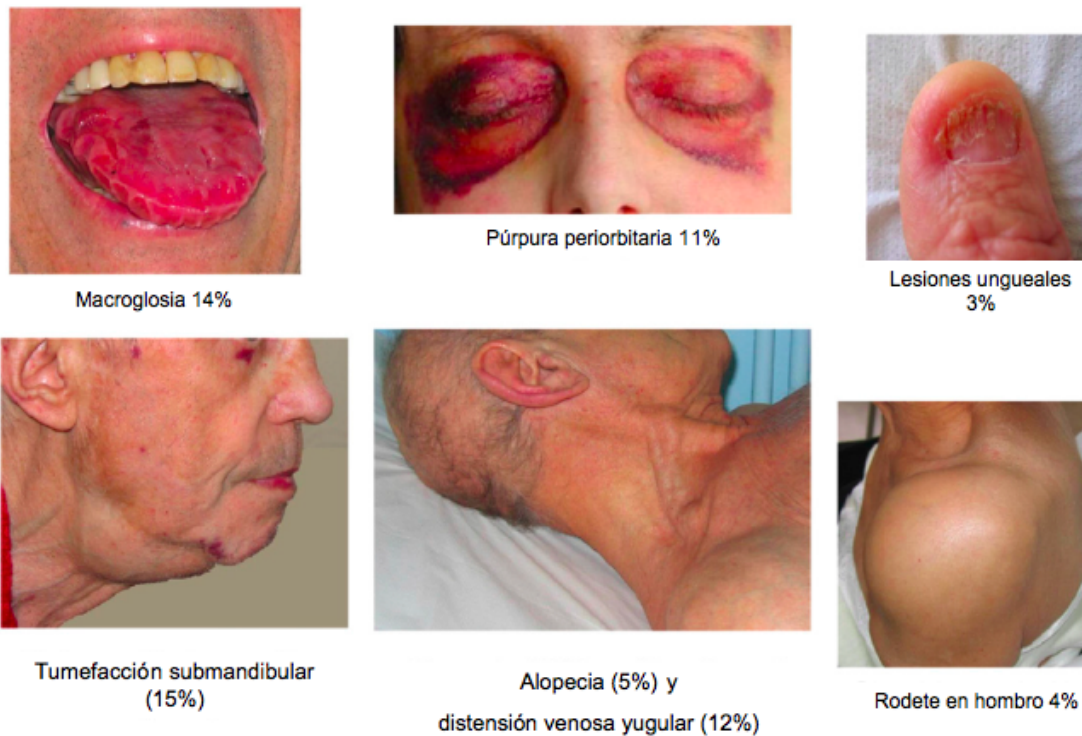


Adaptada de: Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med* 2003;349:583–96<sup>(13)</sup>.

- A nivel renal, la proteinuria puede variar desde grados leves hasta síndrome nefrótico, pudiendo progresar a insuficiencia renal crónica. La lesión renal suele ser irreversible, sin que exista una relación entre el pronóstico y el grado de proteinuria. La afectación renal está presente en la mayoría de pacientes con amiloidosis AA y en el 70% de amiloidosis AL. La albuminuria es el primer hallazgo en ambas. En amiloidosis Apo A-I con afectación renal, se observa una reducción progresiva en la tasa de filtrado glomerular sin proteinuria significativa.
- En cuanto a la afectación hepática, aunque suele ser frecuente, las alteraciones de la función hepática suelen ser mínimas y aparecen en estadios avanzados de la enfermedad. Se puede manifestar como colestasis y hepatomegalia. Los síntomas digestivos son frecuentes en todos los tipos de amiloidosis sistémica. Pueden deberse a afectación directa del aparato digestivo a cualquier nivel o a infiltración del sistema nervioso autónomo. Los síntomas varían desde obstrucción hasta diarrea, incluyendo hemorragias y malabsorción.
- La neuropatía periférica es un rasgo común de la amiloidosis AL y de la amiloidosis hereditaria por TTR aunque en la AL raramente se presenta de forma aislada. La afectación del nervio periférico se evalúa clínicamente por la presencia de neuropatía sensitivo-motora simétrica ascendente, que afecta inicialmente a la sensibilidad al dolor y a la temperatura. Los estudios de la velocidad de conducción nerviosa y la electromiografía frecuentemente proporcionan resultados negativos porque son las fibras finas las afectadas por el depósito de amiloide.
- La neuropatía autonómica se manifiesta con hipotensión postural, incontinencia miccional y alteración del ritmo intestinal. La afectación multiorgánica hace difícil evaluar la participación del sistema nervioso autónomo. Así, la reducción del gasto cardíaco por afectación miocárdica y la hipoalbuminemia por malnutrición, conllevan a una reducción de la concentración del volumen plasmático, pudiendo jugar un papel en la generación de la hipotensión.
- Además, la afectación cutánea puede aparecer hasta en un 12% de los pacientes con amiloidosis AL, incluyendo macroglosia, tumefacción submandibular y depósitos cutáneos que se manifiestan como púrpura o claudicación mandibular<sup>(1,24)</sup> (*Ilustración 6*). Su presencia es altamente sugestiva de amiloidosis AL puesto que sólo se encuentran en el resto de tipos de amiloidosis de forma excepcional. La macroglosia es, por ejemplo, virtualmente patognomónica de AL en ausencia de acromegalia o mixedema aunque sólo se observa en el 10% de los pacientes<sup>(1,32)</sup>.

Sin embargo, el síndrome del túnel carpiano (STC) puede aparecer tanto en amiloidosis AL como TTR y puede incluso preceder en varios años al resto de manifestaciones de la enfermedad.

*Ilustración 6. Afectación de partes blandas en Amiloidosis AL.*



*Adaptado de: Palladini G, Merlini G. Systemic amyloidoses: what an internist should know. Eur J Intern Med. 2013;24:729-39<sup>(24)</sup>.*

- Sin embargo, independientemente del órgano afectado, las amiloidosis sistémicas frecuentemente se acompañan de manifestaciones no órgano-específicas. Entre ellas caben destacar anorexia, fatiga y malnutrición.

### 1.2.5. DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico precoz es crucial. Bajo el término *red flags* se han etiquetado signos y síntomas que deben hacer sospechar amiloidosis a nivel clínico (*Tabla 7*).

*Tabla 7. Red flags de los principales tipos de Amiloidosis.*

Órgano o síndrome	Tipos de Amiloidosis	Red flags precoces
Corazón	AL	NTproBNP >332ng/L (sensibilidad 100%) o BNP >73ng/L (sensibilidad 89%) en presencia de gammapatía monoclonal y elevación ratio cadenas ligeras de alta sensibilidad.
Riñón	AL, AA	Proteinuria >0,5g/día (predominio de albúmina)
Hígado	AL, AApo A-I	Elevación de GGT o Fosfatasa Alcalina en ausencia de otras causas
Tejidos blandos	AL, ATTR	Síndrome del túnel del carpo
Sistema nervioso periférico o autonómico	AL, ATTR	Dolor neuropático y pérdida de sensibilidad térmica Disfunción eréctil Hipotensión ortostática de reciente aparición o resolución de hipertensión arterial

*Adaptada de: Palladini G, Merlini G. Systemic amyloidoses: what an internist should know. Eur J Intern Med. 2013;24:729-39<sup>(24)</sup>.*

El diagnóstico de amiloidosis AL es de especial importancia dada su rápida progresión y mal pronóstico en ausencia de tratamiento precoz.

El *screening* poblacional no está recomendado pero algunas medidas como la determinación de albúmina de forma esporádica en pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas puede ser de ayuda para detectar el desarrollo de insuficiencia renal por amiloidosis AA<sup>(26)</sup> así como la determinación de biomarcadores cardíacos en pacientes con gammapatías monoclonales de significado incierto (GMSI) con un ratio de cadenas ligeras de alta sensibilidad en suero (Freelite) alterado.

Se debe tener en cuenta asimismo que la ausencia de antecedentes familiares no excluye la posibilidad de amiloidosis hereditaria dada la variable penetrancia de la enfermedad y que la existencia de una GMSI no es sinónimo de amiloidosis AL, dada la alta prevalencia de esta entidad, que afecta hasta a un 5-10%<sup>(32,35,36)</sup> de la población mayor de 70 años.

Tras la sospecha clínica y la realización de pruebas no invasivas, se requiere identificar en cortes histológicos de biopsia las fibrillas de amiloide. Ante la sospecha de amiloidosis sistémica, se pueden llevar a cabo biopsias de grasa abdominal, recto o glándulas salivales<sup>(37)</sup>. También se puede valorar la realización de biopsia renal, de nervios periféricos o de médula ósea<sup>(32)</sup>.

El aspirado de grasa abdominal es la técnica más sencilla, segura y menos invasiva, que puede realizarse de forma ambulatoria. Su sensibilidad es superior al 80% en amiloidosis AL y AA, pero es menor en amiloidosis por transtiretina<sup>(38)</sup>. El rendimiento de la biopsia de glándula salival se encuentra entorno al 60% en amiloidosis sistémicas con aspirado de grasa abdominal negativo<sup>(39)</sup>. La biopsia secuencial de estas dos localizaciones tiene un valor predictivo negativo del 91%, limitando por tanto la necesidad de biopsia de otros órganos a menos del 10% de los pacientes<sup>(26)</sup>. La biopsia rectal tiene una buena sensibilidad tanto en amiloidosis AL, AA como en transtiretina<sup>(40,41)</sup>.

Aunque previamente se consideraba la biopsia de órganos afectados como última opción ante la persistencia de sospecha y la negatividad de las biopsias menos invasivas, cada vez la tendencia va a favor de dirigir la biopsia a la localización de mayor rendimiento para evitar demoras en el diagnóstico, teniendo en cuenta el bajo riesgo de complicación hemorrágica<sup>(24)</sup>. Debe tenerse en cuenta también a la hora de elegir, la experiencia de cada centro.

Los depósitos de amiloide son acelulares y no están rodeados de reacción inflamatoria<sup>(42)</sup>. Además del depósito extracelular de las fibras con conformación de hoja  $\beta$  plegada, agregados de otras morfologías se observan de forma común entre los depósitos de amiloide independientemente del subtipo: el componente P de amiloide sérico (SAP), la apolipoproteína E, componentes del tejido conectivo (colágenos y glicosaminoglicanos) y componentes de membrana (fibronectina y laminina)<sup>(43)</sup>.

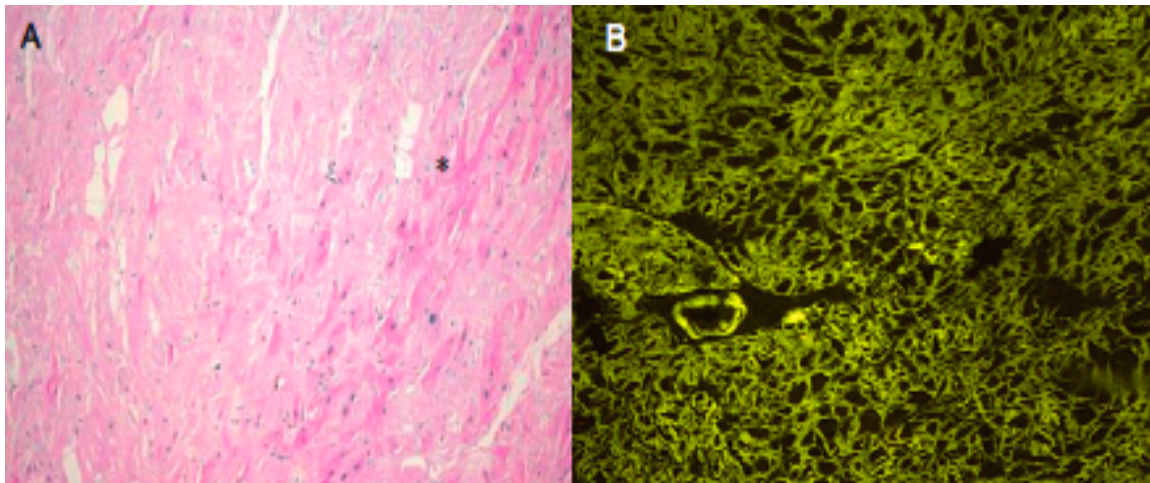
Todos los depósitos de amiloide contienen el componente P de amiloide sérico (SAP), una glicoproteína que pertenece a la familia de las pentraxinas y que se une al amiloide independientemente de la proteína de origen. Esto ha hecho que SAP sea útil como marcador diagnóstico en técnicas de imagen de depósitos a nivel sistémico<sup>(44)</sup>. SAP estabiliza las fibras de amiloide y las protege de la proteólisis *in vitro* y por tanto hace los depósitos resistentes a la degradación, constituyendo por ello también una diana terapéutica<sup>(42)</sup>.

Los proteoglicanos son también comunes y contribuyen a la composición de carbohidratos. Concretamente, los proteoglicanos heparán sulfato tienen una cinética de depósito similar a la de las fibras y se localizan con elementos constitutivos de la matriz extracelular. Estas moléculas podrían constituir el andamio sobre el que se iniciaría el depósito de fibras además de jugar un papel en la órgano-especificidad.

Anatomopatológicamente, los depósitos de amiloide se tiñen de rosa con tinción de Hematoxilina-Eosina y presentan una metacromasia con la tinción de Violeta de Genciana (*Ilustración 7*).

*Ilustración 7. Tinciones de muestras de biopsia endomiocárdica de paciente con Amiloidosis cardíaca hereditaria por transtiretina con Hematoxilina-Eosina y Tioflavina T.*

**A)** Tinción con Hematoxilina-eosina ( $\times 200$ ). Depósito de amiloide (\*) con apariencia de material amorfo entre miocitos. **B)** Tinción de Tioflavina T ( $\times 200$ ) del mismo paciente.



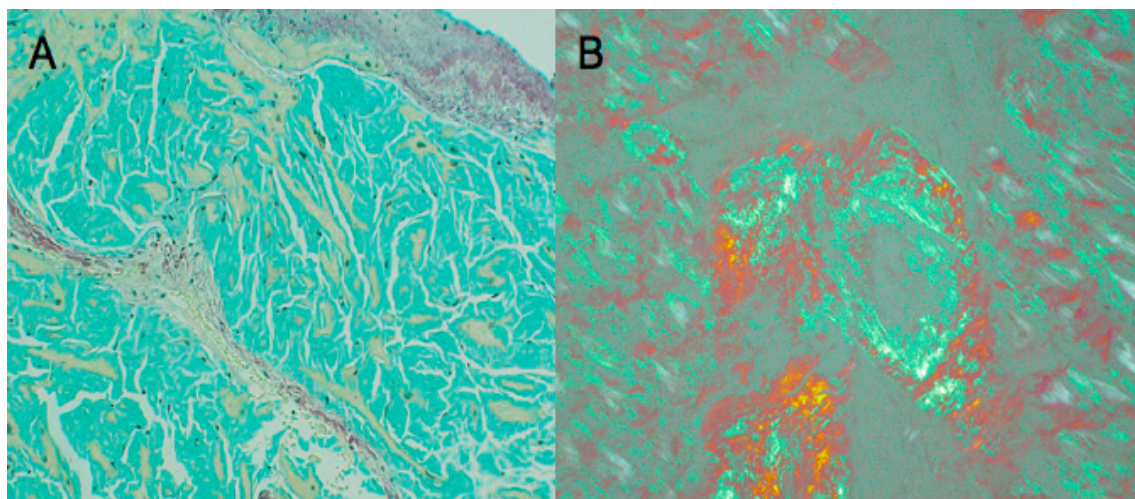
*Fuente: García-Pavía P, Tomé-Esteban MT, Rapezzi C. Amiloidosis Cardíaca. También una enfermedad del corazón. Rev Esp Cardiol. 2011;64:797-808<sup>(1)</sup>.*

Se caracterizan por aparecer como material hialino que se tiñe con Rojo Congo, proporcionando una birrefringencia verde bajo luz polarizada; Tioflavina T, produciendo una intensa fluorescencia amarillo-verdosa y Azul Alcian, proporcionando una tinción verde<sup>(11)</sup> (*Ilustraciones 7 y 8*).



*Ilustración 8. Tinciones de muestras de miocardio con Azul de Alcán y Rojo Congo.*

**A)** Tinción con Azul de Alcán en paciente con IC y ecocardiograma sugestivo de amiloidosis cardíaca. Los miocitos aparecen amarillos entre el depósito de amiloide, de color turquesa. **B)** Muestra con tinción Rojo Congo vista bajo microscopio de luz polarizada ( $\times 200$ ). El depósito vascular e intersticial de amiloide aparece con birrefringencia rojo-verde.



*Fuente: Dubrey SW, Hawkins PN, Falk RH. Amyloid diseases of the heart: assessment, diagnosis, and referral. Heart. 2011;97:75-84<sup>(32)</sup>.*

Sin embargo, con tinciones inadecuadas, pueden darse falsos negativos, por lo que si la sospecha es alta, se debe considerar una segunda opinión o incluso volver a biopsiar en casos seleccionados<sup>(45)</sup>. En los casos en los que la tinción Rojo Congo falla en demostrar la presencia de amiloide, se puede recurrir al microscopio electrónico, que permite visualizar el depósito como material extracelular homogéneo<sup>(32)</sup>.

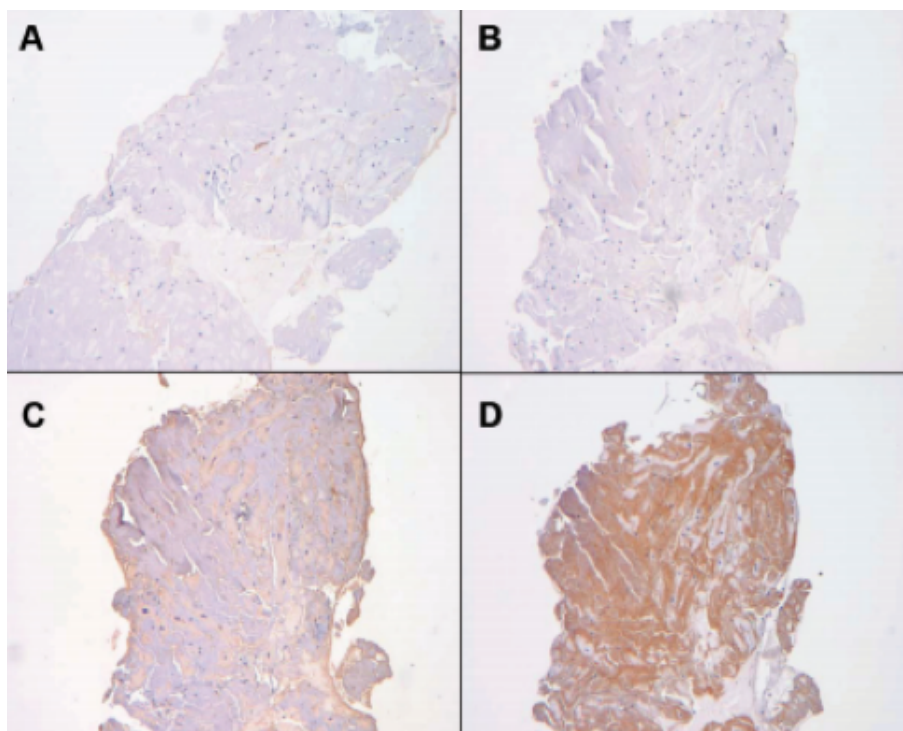
Una vez identificada la presencia de amiloide, para su clasificación en subtipos pueden emplearse en la actualidad una combinación de inmunohistoquímica, análisis genético de ADN y proteómica.

Una serie inglesa del centro nacional de referencia de amiloidosis de Reino Unido reportó el diagnóstico erróneo de amiloidosis AL en 34 pacientes de una cohorte de 350 pacientes en los que se documentaron mutaciones en fibrinógeno (18 pacientes), TTR (13 pacientes), apolipoproteína (2) y lisozima (1)<sup>(46)</sup>, subrayando la importancia de perseguir el diagnóstico definitivo del subtipo para poder adecuar el tratamiento.

La inmunohistoquímica, basada en el uso de un panel de anticuerpos monoespecíficos contra proteínas amiloideas conocidas, se puede emplear en la identificación de los subtipos hasta en el 60-70% de los casos<sup>(32)</sup> (*Ilustración 9*). Los paneles de anticuerpos disponibles suelen proporcionar resultados definitivos en amiloidosis por

TTR<sup>(6)</sup>, son sensibles en amiloidosis AA y menos en AL dado que los epítomos de las cadenas ligeras que generalmente reconocen  $\lambda$  y  $\kappa$  pueden perderse durante la fijación del tejido<sup>(32)</sup>. Además, los depósitos de amiloide contienen el extremo N-terminal de las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas y los anticuerpos comerciales existentes se unen al extremo C-terminal<sup>(26)</sup>.

*Ilustración 9. Inmunohistoquímica en muestras de biopsia endomiocárdica con anticuerpos: A) Anti-cadena kappa, B) Anti-cadena lambda, C) Amiloide sérico A, D) Transtiretina.*



*Fuente: Ruberg FL, Berk JL. Transthyretin (TTR) cardiac amyloidosis. Circulation 2012; 126:1286-300.*

Dadas las limitaciones de la inmunohistoquímica, se han desarrollado aproximaciones bioquímicas más sofisticadas que sin embargo, requieren cantidades de muestra no disponibles en la práctica clínica habitual y carecen de especificidad<sup>(47)</sup>.

La espectrometría de masas proporciona resultados definitivos y constituye el método *gold estándar* en la actualidad para el diagnóstico del subtipo de amiloidosis. Las técnicas de proteómica incluyendo la electroforesis en dos dimensiones, la microdissección con láser y la tecnología de identificación de proteínas multidimensional, son modernas herramientas para la identificación del subtipo que aunque aún no están disponibles en la práctica clínica diaria de forma generalizada, se espera que ayuden en el diagnóstico en los próximos años, especialmente en los casos en los que la inmunohistoquímica no proporciona resultados definitivos<sup>(6,47,48)</sup>.



El análisis de espectrometría de masas mediante láser captura es sensible y específico para el diagnóstico de los tipos de amiloidosis. En una serie de 50 muestras de pacientes y en un set de 41 muestras de pacientes con amiloidosis para validación, el subtipo se identificó mediante esta técnica con una sensibilidad y especificidad del 100% en el grupo control y del 98% en el de validación<sup>(26)</sup>.

#### **1.2.6. TRATAMIENTO.**

La piedra angular del tratamiento de las amiloidosis sistémicas se fundamenta en la supresión de la síntesis de la proteína amiloidea.

En el caso de la amiloidosis AL se basa en quimioterapia y/o trasplante autólogo de médula ósea como forma de ataque al clon de células plasmáticas productoras.

La AA es la formade amiloidosis en la que la producción de la sustancia proamiloidogénica se puede suprimir de forma más eficaz en la actualidad. El tratamiento antiinflamatorio como los factores anti-necrosis tumoral en la artritis reumatoide, pueden suprimir de forma considerable la producción de proteína sérica A.

Estrategias alternativas incluyen la reducción de la propensión amiloidea del precursor y la eliminación de los depósitos.

El tratamiento de soporte incluyendo el trasplante de órganos juega un papel fundamental en la amiloidosis. El trasplante puede prolongar la supervivencia, mejorar la calidad de vida y hacer que los pacientes en estadios avanzados de la enfermedad puedan ser candidatos a tratamientos específicos y agresivos<sup>(24)</sup>. Se debe tener en cuenta la posible recurrencia en el órgano trasplantado y la progresión en otros órganos.

El mantenimiento de un buen estado nutricional es fundamental dado que la malnutrición afecta de forma independiente el pronóstico y la calidad de vida, además de limitar la idoneidad para ser candidato a terapias invasivas.

### 1.3. AMILOIDOSIS CARDÍACA.

La amiloidosis cardíaca (AC) se refiere a la afectación cardíaca como consecuencia del depósito de amiloide a nivel cardíaco, pudiendo aparecer en el contexto de una afectación sistémica o de forma aislada<sup>(1)</sup>.

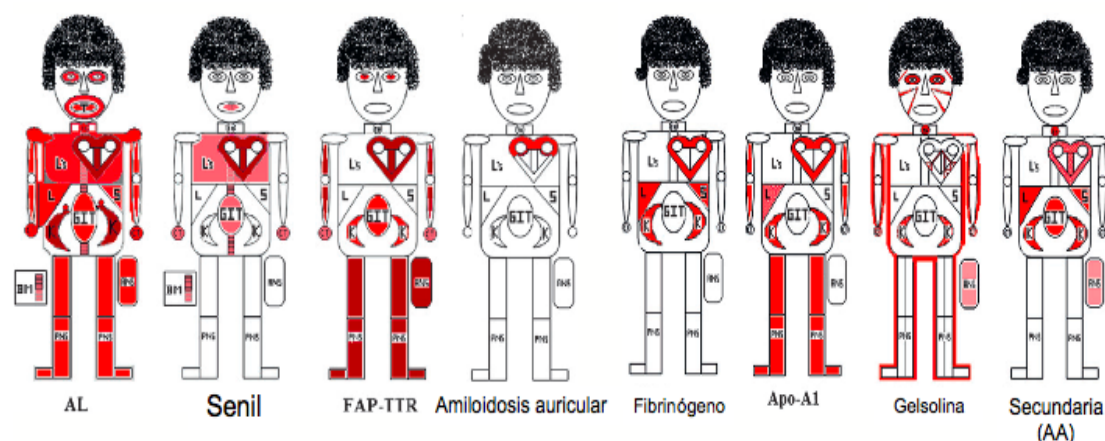
La afectación cardíaca es la primera causa de morbi-mortalidad de las amiloidosis sistémicas, especialmente en el caso de amiloidosis AL. Puede constituir incluso la primera manifestación con intolerancia al ejercicio e IC<sup>(43)</sup>.

El depósito a nivel cardíaco se puede producir a nivel de las aurículas (péptido natriurético auricular), los ventrículos o ambos<sup>(1)</sup>.

Se han documentado depósitos localizados a nivel de ambas aurículas en pacientes con Fibrilación auricular (FA) y flutter, a partir de muestras tomadas en cirugías cardíacas<sup>(49)</sup>. El precursor es el péptido natriurético auricular y no existe componente sistémico<sup>(11)</sup>. Los depósitos de amiloide auricular se han asociado a edad avanzada<sup>(32)</sup>. Sin embargo, se han reportado también en pacientes a partir de la década de los 40<sup>(26)</sup>. A diferencia de la Amiloidosis Senil, es más común en mujeres sin que existan razones para esta diferencia de distribución entre géneros<sup>(11)</sup>. Su significado es todavía desconocido. Se ha sugerido una relación inversa con la fibrosis auricular, como factor precipitante de FA y como resultado del remodelado asociado a la propia FA<sup>(11)</sup>. Aunque para unos autores no presentan significación clínica excepto el posible papel asociado al desarrollo de FA<sup>(32)</sup>, también se han documentado como causa de IC crónica.

De todas las proteínas capaces de producir material amiloide, sólo cuatro lo hacen de forma significativa a nivel cardíaco<sup>(1)</sup> (*Ilustración 10*). Existe una gran variabilidad clínica entre los distintos tipos de amiloidosis cardíaca e incluso la presentación clínica cardíaca varía dentro de un amplio espectro (*Tabla 8*).

**Ilustración 10.** Ilustración esquemática de la distribución por órganos y la extensión del depósito de amiloide de los ocho tipos más frecuentes de amiloidosis sistémicas.



Adaptada de: Dubrey SW, Hawkins PN, Falk RH. Amyloid diseases of the heart: assessment, diagnosis, and referral. *Heart*. 2011;97:75-84<sup>(32)</sup>.

**Tabla 8.** Subtipos más frecuentes de Amiloidosis cardíaca.

Tipo de amiloidosis	Proteína	Afección cardíaca	Mediana de supervivencia (meses)	Clínica extracardiaca habitual	Tratamiento
Primaria (AL)	Inmunoglobulina ligera	50%	13 (4 si IC al diagnóstico y sin tratamiento)	Nefropatía, proteinuria, disfunción autonómica, STC, neuropatía, macroglosia, púrpura	Quimioterapia+TMO
Secundaria (AA)	Amiloide A sérico	5%	24,5	Nefropatía, proteinuria, hepatomegalia	Tratamiento de proceso inflamatorio/infeccioso subyacente
Hereditaria TTR (ATTR)	Transtiretina	Variable, en función de la mutación	70	Neuropatía, disfunción autonómica	Trasplante hepático
Hereditaria Apo-AI (AApoAI)	Apolipoproteína A-I	Variable, en función de la mutación	Sin datos	Nefropatía	Trasplante hepático
Hereditaria fibrinógeno A (AFib)	Fibrinógeno	Variable, rara	Sin datos	Nefropatía	Trasplante hepático
Senil (ATTR)	Transtiretina	100%	75	STC	Soporte

Fuente: García-Pavía P, Tomé-Esteban MT, Rapezzi C. Amiloidosis Cardíaca. También una enfermedad del corazón. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:797-808<sup>(1)</sup>.

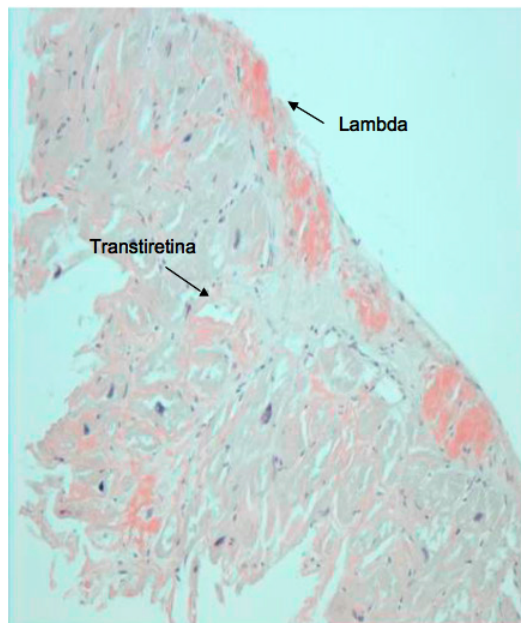
Entre ellas, la amiloidosis AL y por Transtiretina son las de mayor relevancia clínica. Se considera que sólo el 2% de las amiloidosis AA tiene afectación cardíaca. Sin embargo, un estudio de autopsias en pacientes con artritis reumatoide demostró que el depósito cardíaco generalmente no se manifiesta de forma clínica pero que la afectación cardíaca es tan frecuente como la renal, siendo éste el órgano más afectado<sup>(32)</sup>.

En la amiloidosis AL, por su relevancia clínica, la afectación cardíaca se produce en el 50% de los casos y la IC se da en la mitad de ellos<sup>(11)</sup>, siendo éste el factor de peor pronóstico. El desarrollo de IC, precede al fallecimiento en una media de 6-12 meses<sup>(11,32)</sup>.

A pesar de los 4 tipos predominantes de infiltración cardíaca, existen raros casos en los que dos tipos de depósito de amiloide se identifican en el mismo paciente<sup>(48)</sup> (*Ilustración 11*).

*Ilustración 11. Dos subtipos de amiloide en el mismo corazón.*

*Tinción Rojo Congo en muestra de miocardio. Área de Rojo Congo oscuro teñida con anticuerpo anti-cadena ligera lambda pero no transtiretina y área de Rojo Congo clara teñida con anticuerpo anti-transtiretina, pero no cadena ligera lambda.*



*Adaptada de: Mahmood S. et al. Two types of amyloid in a single heart. Blood 2014;124:3025-7<sup>(48)</sup>.*

El patrón de infiltración es similar de unas formas a otras, pudiendo afectar tanto a nivel vascular, a la función contráctil como a nivel del sistema de conducción<sup>(1,37)</sup>.

Los depósitos se presentan en forma de agregados nodulares con ramificaciones que envuelven y aíslan los miocitos<sup>(1)</sup>. A medida que la enfermedad avanza, se produce necrosis miocítica, en parte como consecuencia del efecto tóxico directo del amiloide y se desarrolla fibrosis intersticial.

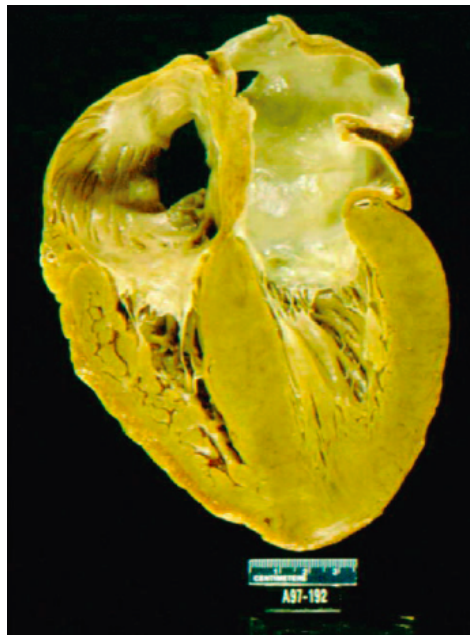
- A nivel miocárdico, los depósitos producen engrosamiento de las paredes ventriculares (*Ilustración 12*) y secundariamente, alteración de la relajación y

distensibilidad ventriculares. En las fases avanzadas, el aumento de presiones da lugar a una fisiología restrictiva y finalmente, puede existir disfunción ventricular sistólica como consecuencia de la fibrosis intersticial.

La hipertrofia ventricular conduce a una disfunción hemodinámica aunque existen pocos datos que la hayan documentado. Suele ser más marcada en amiloidosis AL<sup>(50)</sup>. En un estudio con 38 pacientes con amiloidosis hereditaria por TTR, sólo un paciente (3%) presentaba *Dip plateau* en la curva de presiones del ventrículo derecho y 13 (34%) elevación de la presión capilar pulmonar. Curiosamente, 11 pacientes (29%) no presentaban disfunción diastólica al menos en reposo<sup>(51)</sup>.

*Ilustración 12. Autopsia de corazón con infiltración de amiloide.*

*Se aprecia la no dilatación de ventrículos, el engrosamiento biventricular y la dilatación biauricular con engrosamiento del tabique interauricular.*



*Fuente: Falk RH. Diagnosis and management of the cardiac amyloidoses. Circulation. 2005;112:2047-60<sup>(11)</sup>.*

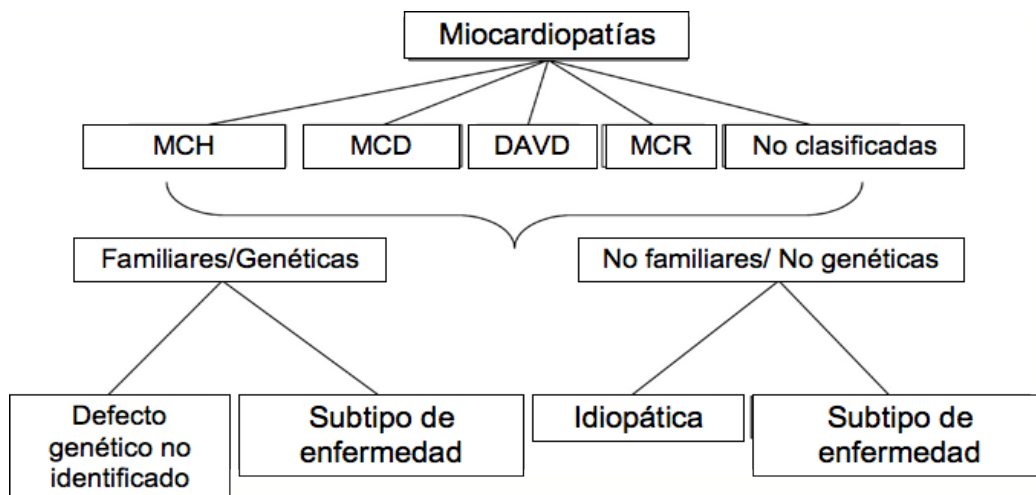
- A nivel vascular, la afectación epicárdica no suele ser significativa. Sin embargo, la infiltración de la microvasculatura condiciona isquemia originándose múltiples focos endomiocárdicos de microinfartos y dando lugar clínicamente a angina, que puede acompañarse también de claudicación mandibular<sup>(1)</sup>.

- A nivel del sistema de conducción, los depósitos no son frecuentes y sin embargo, la fibrosis perivascular puede afectar al nodo sinusal y al haz de His. La función del nodo aurículoventricular suele estar preservada<sup>(1)</sup>. En los raros casos de amiloidosis por mutación en gelsolina, el sistema de conducción es el único afectado<sup>(32)</sup>.

La presentación más característica es la de una miocardiopatía restrictiva con disfunción diastólica y disfunción sistólica biventricular subsiguiente además de arritmias auriculares.

Según las dos principales clasificaciones internacionales de miocardiopatías, la amiloidosis cardíaca se considera una forma de miocardiopatía restrictiva<sup>(52,53)</sup> y frecuentemente constituye el ejemplo típico de la miocardiopatía infiltrativa (*Ilustración 13*).

*Ilustración 13. Sistema europeo de clasificación de miocardiopatías.*



*Adaptada de: Elliott P et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. Eur Heart J. 2008;29:270-6<sup>(53)</sup>.*

*Leyenda: MCH indica Miocardiopatía hipertrófica; MCD, Miocardiopatía dilatada; DAVD, Displasia arritmogénica de ventrículo derecho; MCR, Miocardiopatía Restrictiva.*

Entre los síntomas, la disnea es la manifestación clínica más frecuente. El edema pulmonar no es frecuente en las fases iniciales a diferencia de los derrames pleurales o pericárdicos<sup>(1)</sup>. Clásicamente da lugar a IC con FEVI conservada<sup>(26)</sup>, con predominio de los signos de IC derecha<sup>(6)</sup>, incluyendo edema en miembros inferiores, elevación de presión venosa yugular, hepatomegalia y ascitis.

El síncope es frecuente e implica un pobre pronóstico. Se presenta típicamente con el esfuerzo o post-prandial como parte de las miocardiopatías restrictivas. Los mecanismos implicados incluyen la sensibilidad a la depleción intravascular secundaria a los diuréticos, la disautonomía, la afectación del tejido de conducción o la aparición de arritmias ventriculares. La regulación adrenérgica y la respuesta cardíaca a la estimulación neurohormonal están alteradas por los depósitos. Con frecuencia se observa la desaparición de la hipertensión arterial (HTA) si el paciente era hipertenso previamente<sup>(1)</sup>.

La presentación puede producirse también con eventos cerebrovasculares de forma secundaria a trombos intraventriculares o a nivel de la orejuela izquierda, pudiendo constituir incluso la primera manifestación de la enfermedad<sup>(1)</sup>.

La amiloidosis cardíaca se puede presentar con un cuadro que simula la miocardiopatía hipertrófica incluso con obstrucción del tracto de salida, aunque esto es muy infrecuente<sup>(37,43)</sup>. Otras entidades con las que se debe plantear el diagnóstico diferencial se recogen en la *Tabla 9*. En cuanto a la cardiopatía hipertensiva, la presencia de signos y síntomas de IC derecha deben siempre sugerir la sospecha de amiloidosis puesto que son una manifestación inusual de cardiopatía hipertensiva<sup>(37,51)</sup>.

*Tabla 9. Diagnóstico diferencial con Amiloidosis cardíaca.*

Condiciones que pueden simular Amiloidosis cardíaca
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enfermedad de Fabry</li> <li>- Miocardiopatía mixoedematosa</li> <li>- Cardiopatía hipertensiva</li> <li>- Miocardiopatía hipertrófica (MCH)</li> <li>- Hemocromatosis</li> <li>- Miocardiopatía restrictiva (MCR)</li> <li>- Estenosis aórtica u Obstrucción de tracto de salida de ventrículo izquierdo</li> <li>- Enfermedad por depósito de glucógeno</li> <li>- Sarcoidosis (aunque generalmente se presenta como miocardiopatía dilatada)</li> <li>- Enfermedad maligna infiltrativa</li> </ul>

*Adaptada de: Dubrey SW, Hawkins PN, Falk RH. Amyloid diseases of the heart: assessment, diagnosis, and referral. Heart. 2011;97:75-84<sup>(32)</sup>.*

Dado que la amiloidosis cardíaca es infrecuente y que los síntomas iniciales pueden ser inespecíficos, frecuentemente se produce un retraso importante en el establecimiento del diagnóstico<sup>(54)</sup>.

El continuo de la afectación cardíaca hace que el reconocimiento de la entidad en fases iniciales cuando los hallazgos son leves, sea un reto. Además, la percepción de enfermedad rara por parte de la mayoría de los cardiólogos frente a entidades frecuentes que causan hipertrofia ventricular como la HTA o la MCH, ha disminuido el umbral de reconocimiento de esta entidad en la práctica clínica habitual<sup>(55)</sup>.

## **1.4. AMILOIDOSIS CARDÍACA POR TRANSTIRETINA.**

### **1.4.1. TRANSTIRETINA.**

La transtiretina (TTR) es una proteína plasmática previamente conocida como prealbúmina porque migra cerca del ánodo al que migra la albúmina en electroforesis. Sin embargo, este término es engañoso puesto que TTR no es precursora de albúmina<sup>(51)</sup>.

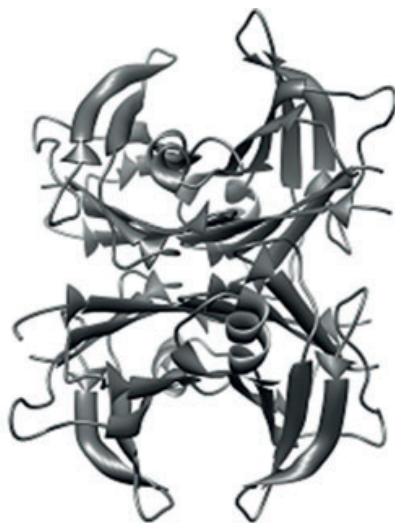
Actúa como una proteína transportadora de tiroxina (T4) y de la proteína ligada a retinol en el plasma y en el líquido cefalorraquídeo. En su estructura presenta dos lugares idénticos para la unión de T4 en la interfaz dímero-dímero y otro ortogonal para la unión al complejo proteína ligada a retinol-vitamina A. Menos del 10% de T4 va unida a TTR en plasma dada su alta afinidad por la unión a otras proteínas como albúmina y la globulina fijadora de tiroxina (TBG). Por ello, los lugares de unión a T4 de TTR presentan un alto grado de ocupación (>99%)<sup>(56)</sup>.

Además, su capacidad para unirse a una larga variedad de pequeñas moléculas, otras proteínas y péptidos como el péptido A $\beta$  sugiere que puede que realice otras funciones biológicas, posiblemente relacionadas con la detoxificación de metabolitos no deseados y proteínas mal plegadas<sup>(16)</sup>.

Estructuralmente está compuesta por un tetrámero de 56KDa<sup>(12)</sup>, con cuatro subunidades idénticas. Cada monómero está formado por 127 aminoácidos organizados en 8 dominios antiparalelos en forma  $\beta$  plegada (*Ilustración 14*).



*Ilustración 14. Estructura del tetrámero de Transtiretina.*



*Fuente: Nencetti S, Rossello A, Orlandini E. Tafamidis (Vyndaqel): a light for FAP patients. Chem Med Chem. 2013;8:1617-9<sup>(56)</sup>.*

El gen de la transtiretina está localizado en el cromosoma 18q12.1 y está formado por 4 exones y 5 intrones<sup>(55)</sup>.

Se sintetiza fundamentalmente en el hígado (95%), pero también se produce en menor cuantía en la retina y en plexos coroideos. Se ha descrito además su producción por células  $\alpha$  de las células pancreáticas<sup>(57)</sup>.

En cuanto a sus concentraciones en plasma, se encuentran reducidas en condiciones que implican inflamación y malnutrición proteica<sup>(57)</sup>. Sin embargo, no se miden en la práctica clínica habitual aunque podrían aportar información relevante en determinadas situaciones. Las concentraciones normales varían de 20 a 40 mg dL<sup>-1</sup><sup>(37)</sup>. Un estudio japonés de 1995 documentó una reducción de los niveles tras trasplante hepático y una vida media de 2,1 días. Otro estudio más reciente documentó concentraciones más bajas en portadores de mutación Val30Met y Val122Ile en comparación con controles, posiblemente reflejo del consumo de TTR para su paso a amiloide, por lo que podría emplearse tanto en el diagnóstico como, sobre todo, en el seguimiento de pacientes receptores de nuevos tratamientos<sup>(6)</sup>.

#### 1.4.2. AMILOIDOSIS HEREDITARIA POR TRANSTIRETINA.

La Amiloidosis Hereditaria por Transtiretina (ATTR) fue descrita por primera vez por Andrade en una familia en el norte de Portugal, en 1952. Posteriormente se descubrió que los miembros de dicha familia eran heterocigotos para la variante Val30Met<sup>(12,58)</sup>. Su descripción fue seguida por casos en Japón (1968) y Suecia (1976)<sup>(12)</sup>. Más tarde, los progresos bioquímicos y moleculares han permitido comprender que la enfermedad se da en todo el mundo<sup>(51,57)</sup>.

A nivel mundial, se considera que son 10.000 los pacientes afectados<sup>(37)</sup> por ATTR (*Ilustración 15*). En Europa, se estima que su prevalencia es inferior a 1 por cada 100.000 habitantes. El grupo más amplio de pacientes, por mutación Val30Met, se encuentra al norte de Portugal (Póvoa de Varzim y Vila do Conde), con una incidencia estimada de 1 de cada 538 personas.

En España, Huelva y las Islas Baleares se consideran zonas endémicas de ATTR. La prevalencia estimada en Mallorca considerando sólo los pacientes sintomáticos es de 3 por cada 100.000 habitantes, ascendiendo a 11 de cada 100.000 contando con los pacientes trasplantados. La incidencia estimada de nuevos pacientes sintomáticos en Baleares se sitúa entre 4 y 6 al año<sup>(59)</sup>.

*Ilustración 15. Distribución mundial de Amiloidosis Hereditaria por transtiretina.*



*Adaptado de: Planté-Bordeneuve V, Said G. Familial amyloid polyneuropathy. Lancet Neurol. 2011;10:1086-97<sup>(12)</sup>.*

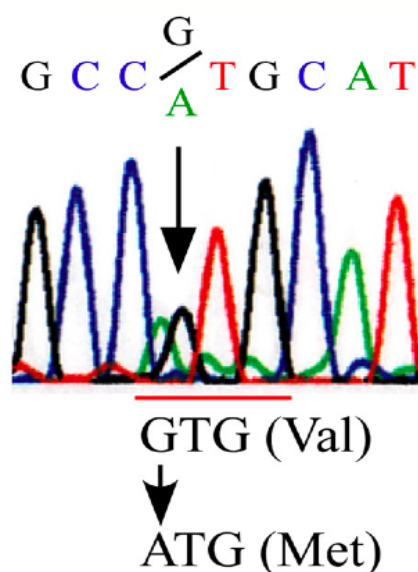
En 2013 se creó un registro observacional a nivel internacional, el *Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey (THAOS)* diseñado para estudiar el curso de la

enfermedad y su manejo. En él se incluyen tanto pacientes como portadores asintomáticos.

Se han identificado hasta la fecha 120 mutaciones en el gen de la transtiretina<sup>(12)</sup> (<http://amyloidosismutations.com/mut-attr.php>). Las primeras mutaciones se documentaron en casos de polineuropatía. Es por ello y por el predominio de mutaciones con clínica neurológica que hasta hace poco tiempo se designaba a esta entidad como Polineuropatía amiloide familiar (FAP). Sin embargo, la afectación cardíaca se ha descrito en más de la mitad de las variantes identificadas. Por ello, actualmente, se prefiere la denominación como Amiloidosis Hereditaria por Transtiretina (ATTR), aunque dado el amplio uso de FAP en la literatura neurológica, se admite también<sup>(10)</sup>.

Las distintas mutaciones determinan una capacidad específica de sustitución de aminoácidos. Típicamente, las variantes son *missense* puntuales inducidas por la sustitución de un nucleótido (*Ilustración 16*), excepto una microdelección en  $\Delta\text{Val122}$ <sup>(12)</sup>. Sin embargo, cambios en dos nucleótidos o la delección de un codon completo pueden también producir un cambio en un aminoácido<sup>(55)</sup>. Se considera que dichas mutaciones promueven la desestabilización del tetrámero bien por inestabilidad térmica o cinética, disociando la proteína tetramérica en monómeros que dan lugar a fibras de amiloide (*Ilustración 3*) aunque característicamente, en esta entidad coexiste también amiloide derivado de TTR nativa<sup>(32)</sup>.

*Ilustración 16. Análisis de secuenciación del gen TTR. Mutación Val30Met.*



*Fuente: Ueda M, Ando Y. Recent advances in transthyretin amyloidosis therapy. Transl Neurodegener. 2014;3:19<sup>(57)</sup>.*

ATTR se trata de una condición con herencia autosómica dominante, siendo la mayoría de los pacientes heterocigotos con variante y alelo normal de TTR. Los casos de mutaciones espontáneas son relativamente frecuentes e incluso la enfermedad puede haber pasado desapercibida o sin diagnosticar en generaciones previas<sup>(32,37)</sup>.

No todos los portadores de mutación desarrollarán la enfermedad<sup>(54)</sup>. La penetrancia depende de la mutación y del grupo étnico al que afecte<sup>(32,37)</sup>. De hecho, unas pocas mutaciones no se han asociado con amiloidosis<sup>(13,57)</sup> y se cree que un par de ellas podrían proteger frente a los depósitos de amiloide<sup>(13)</sup>.

La variante Thr119Met (T119M) tiene un efecto termodinámico estabilizador en los tetrámeros de TTR en asociación con el polipéptido nativo y con la variante amiloidogénica Val30Met (*Ilustración 3*). Por tanto, los sujetos con tetrámeros de TTR con genotipo Met30/Met119 están protegidos de la enfermedad frente a los que desarrollaran la enfermedad con el genotipo Met30/wt o wild type<sup>(55,60)</sup>. Este efecto ha sido también descrito en otra variante, Arg104His. En ambos casos, la segunda mutación aumenta la barrera cinética para la disociación de los tetrámeros y bloquea por tanto el paso clave para la formación de amiloide<sup>(61)</sup>.

Muchas mutaciones están agrupadas en determinados grupos étnicos o restringidas a un área geográfica determinada, indicando la existencia de mutaciones fundadoras<sup>(51)</sup>.

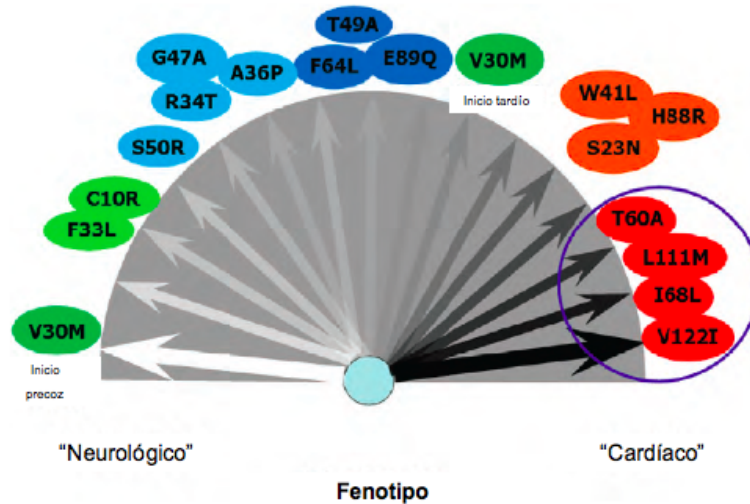
La afectación cardíaca y neurológica varía según la mutación. Existe una fuerte correlación genotipo-fenotipo (*Ilustración 17*) aunque una única mutación no conduce a un único fenotipo clínico y existe una heterogenicidad intramutación e intrafamiliar relevante<sup>(37,62)</sup>. Esto implica que los factores ambientales y los genes modificadores tienen un importante papel en la expresión de la enfermedad<sup>(1)</sup>.

La mayoría de las mutaciones descritas asocian polineuropatía, con afectación cardíaca entre el 50 y el 80% de los casos<sup>(12,37)</sup>. La cardiopatía frecuentemente se infradiagnostica sobre todo si la afectación neurológica es leve o no está presente<sup>(51)</sup>. Aproximadamente 44 mutaciones conocidas implican una afectación cardíaca en mayor o menor grado aunque sólo unas pocas están asociadas con un fenotipo exclusivamente cardíaco<sup>(51)</sup>. Concretamente, cuatro mutaciones son reconocidas por tener una afectación predominante o exclusiva cardíaca: Val122Ile, Thr60Ala, Ile68Leu y Leu111Met, encontrándose esta última en familias danesas<sup>(37,62)</sup> (*Ilustración 17*).

En una serie italiana, el 15% de los pacientes con amiloidosis cardíaca hereditaria

(población caucásica y de área no endémica) presentaban una afectación exclusivamente cardíaca al diagnóstico, sin desarrollar clínica neurológica relevante a medio plazo<sup>(62)</sup>.

Ilustración 17. Posible correlación genotipo-fenotipo en Amiloidosis hereditaria por transtiretina.



Adaptada de: Rapezzi et al. Disease profile and differential diagnosis of hereditary transthyretin-related amyloidosis with exclusively cardiac phenotype: an Italian perspective. Eur Heart J. 2013;34:520-8<sup>(62)</sup>.

Dos son las mutaciones más frecuentes a nivel mundial: Val122Ile<sup>(51)</sup> y Val30Met.

#### Val30Met.

La variante Val30Met, por la sustitución de una guanina por una citosina en el exón 2<sup>(12)</sup>, es la mutación más estudiada a nivel mundial. Inicialmente se consideró que la enfermedad era una neuropatía restringida a regiones geográficas específicas consideradas áreas endémicas que incluían ciertas regiones de Portugal, Japón y Suecia. No se ha podido conocer si V30M tiene un origen común entre los tres países pero estudios genéticos han mostrado la presencia de haplotipos comunes<sup>(51)</sup>.

El fenotipo característico de Val30Met endémica es el de una polineuropatía sensitivo-motora que asocia disfunción autonómica. Aunque la afectación cardíaca es rara y puede ocasionar IC típicamente a partir de los 60 años, las alteraciones de la conducción sí son relativamente frecuentes<sup>(51)</sup>. Los pacientes con mutación Val30Met de áreas no endémicas presentan un fenotipo aún más variable, con afectación cardíaca más frecuente y menor disfunción autonómica.

Dentro de la ATTR por mutación Val30Met se distinguen dos perfiles (*Tabla 10*): La forma precoz, descrita principalmente en Portugal, con inicio de los síntomas a mediados de la tercera década y por contra, la forma tardía, sobre todo en Suecia, con debut por encima de los 50 años<sup>(12,63)</sup>.

*Tabla 10. Particularidades del inicio precoz vs. inicio tardío en Amiloidosis hereditaria por transtiretina y su curso clínico.*

	Inicio precoz V30M	Inicio tardío V30M
Edad de inicio	< 50 años	> 50 años
País	Portugal, Japón, Brasil	Suecia, Francia, Reino Unido, Italia, Japón
Historia familiar	94%	48%
<u>Presentación clínica inicial</u>		
Neuropatía periférica	57%	81%
Neuropatía autonómica	48%	10%
Pérdida de peso	5%	0
Retraso medio para necesitar ayuda para la deambulación	> 5,6 años	3 años
Afectación cardíaca	Trastornos de conducción	MCR, IC
Supervivencia media	11 años	7,3 años
Causa de muerte	Caquexia, infecciones	IC, muerte súbita, caquexia, infecciones

*Adaptada de: Adams D. Recent advances in the treatment of familial amyloid polyneuropathy. Ther Adv Neurol Disord. 2013;6:129-39<sup>(63)</sup>.*

Las causas conocidas de la gran variabilidad fenotípica incluyen la distribución geográfica, las diferentes mutaciones y en el caso de Val30Met, el perfil endémico o no. En zonas endémicas se produce fenómeno de anticipación<sup>(3,12,37)</sup> en siguientes generaciones.

Otros factores a los que se apunta son el sexo del portador, el género del progenitor del que se hereda la mutación y la propia composición de las fibras. El sexo femenino se asocia con afectación cardíaca más tardía, retrasándose al menos hasta el inicio de la menopausia<sup>(26,51)</sup> y de hecho, se ha esgrimido como un posible factor protector<sup>(62)</sup>. La edad de inicio de síntomas se retrasa en pacientes de zonas endémicas si la mutación se hereda de la madre frente al padre. Además, un estudio asoció las fibras compuestas sólo por TTR de longitud completa con un inicio precoz de la enfermedad frente al inicio tardío y la afectación cardíaca en depósitos por fibras mixtas procedentes de TTR fragmentada de distintas longitudes<sup>(51,57)</sup>.

***Val122Ile.***

La variante V122I debida a la sustitución del aminoácido isoleucina por valina en la posición 122, fue descrita por primera vez en 1989 por Gorevic et al.<sup>(55)</sup> a raíz del caso de un paciente afrocaribeño de 68 años que falleció por amiloidosis cardíaca. No tenía historia familiar y el análisis genético reveló que era homocigoto para V122I<sup>(6)</sup>.

El examen de muestras de pacientes incluidos en el estudio BEST (Evaluación de los Betabloqueantes en supervivencia de IC), demostró que el 10% de los participantes de raza negra mayores de 60 años eran portadores de la variante V122I. Este estudio que incluyó pacientes en NYHA III-IV con FEVI < 35% sugirió que la amiloidosis cardíaca podía contribuir al desarrollo de IC en pacientes con disfunción ventricular, siendo ésta más frecuente en portadores de mutación en V122I que en otras mutaciones<sup>(55,64)</sup>.

Posteriormente, en 2011, se publicó un estudio epidemiológico con 1688 pacientes sobre la frecuencia de alelos V122I en población afrocaribeña basado en análisis molecular, con una frecuencia calculada del 3,9%<sup>(65)</sup>. La prevalencia es prácticamente indetectable en población blanca<sup>(55)</sup>. Un solo caso ha sido descrito en un paciente del norte de Europa<sup>(51)</sup>. La mutación fundadora parece que se originó en el oeste de África, lo que explicaría la expresión de V122I en las islas del Caribe (Haití, Jamaica y Bermudas)<sup>(55)</sup>.

V122I da lugar a un fenotipo que no puede distinguirse del de la Amiloidosis Senil, con afectación cardíaca aislada y con frecuencia STC como precursor. Predomina igualmente en varones<sup>(26)</sup> y a diferencia de otras variantes, la polineuropatía se presenta raramente. A pesar de su baja penetrancia, probablemente se trate de una causa infradiagnosticada de IC en afrocaribeños dado que con frecuencia la hipertrofia ventricular se atribuye de forma incorrecta a cardiopatía hipertensiva.

Aunque poco frecuente, los pacientes homocigotos para la mutación V122I desarrollan síntomas de cardiopatía como media 8 años antes en comparación con los heterocigotos (64 vs 72 años)<sup>(26)</sup>.

***Thr60Ala.***

La variante Thr60Ala (T60A), resultante de la sustitución de alanina por treonina, se asocia a afectación cardíaca predominante junto con disautonomía. Fue descrita por primera vez en una familia irlandesa en 1986<sup>(6)</sup> y un grupo de casos fue diagnosticado en la parte norte de Irlanda. Afecta al 1% de la población del noroeste de Irlanda<sup>(55)</sup>,

aunque se han descrito casos en todo el mundo. A diferencia de Val30Met, en la serie de pacientes más larga descrita, menos de un cuarto presentaban polineuropatía periférica de lenta progresión<sup>(58)</sup>. Además, la edad de presentación era superior, con una media de 63 años. En cuanto a la afectación cardíaca predomina la IC, con hipertrofia ventricular simétrica y disfunción ventricular moderada junto a trastornos de conducción<sup>(11,62)</sup>. Los factores asociados con la supervivencia en la serie descrita fueron el grosor ventricular, el área auricular por ecocardiografía y los niveles de NTproBNP. La variante T60A predice mal pronóstico en parte por la severidad de la afectación cardíaca y también por la presentación a edad tardía.

De forma independiente a la mutación, la expresión clínica de ATTR es muy variada, pudiendo incluir:

- Afectación ocular: Ocurre en el 10% de los pacientes. Se caracteriza por opacidades del humor vítreo, resultado de la síntesis de amiloide en el epitelio pigmentado de la retina que pueden originar pérdida gradual de visión, glaucoma y la “*pupila festionada*”, hallazgo patognomónico aunque muy raro por el depósito en los nervios ciliares<sup>(12,37,51)</sup>.
- Polineuropatía sensitivo-motora, manifestación diana de la mayoría de los casos. La afectación del sistema nervioso periférico (SNP) generalmente se inicia a nivel de la fibra fina tanto mielinizada como no mielinizada de los nervios de las extremidades inferiores y asciende de distal a proximal<sup>(12,37)</sup>. Las parestesias y disestesias predominan con o sin dolor. La función motora se conserva hasta estadios avanzados aunque los pacientes suelen terminar necesitando el uso bastones o incluso, silla de ruedas<sup>(37,51)</sup>. Debido a la distribución del amiloide en el SNP, los depósitos pueden acumularse de forma local en nervios concretos. El STC es una manifestación frecuente y precoz<sup>(12,37)</sup>.

La valoración de la afectación y progresión neurológica se basa en escalas de la función neuropática empleadas en pacientes con neuropatía diabética como la escala de disfunción neuropática de miembros inferiores (NIS-LL)<sup>(37)</sup>. Además, se han propuesto diferentes escalas sistémicas para evaluar FAP en distintos centros. La más empleada se basa en las distintas fases de la neuropatía periférica y autonómica propuesta por Coutinho et al. en 1980 a raíz del estudio del curso clínico de la enfermedad en una cohorte de 483 pacientes portugueses<sup>(37,63)</sup> (Tabla 11).



*Tabla 11. Estadios de Polineuropatía amiloidea por transtiretina según capacidad de deambulación.*

Estadios	Descripción	Duración del estadio
<b>ESTADIO 1</b>	Deambulación conservada. Neuropatía leve sensitiva, motora y autonómica en miembros inferiores	5,6±2,8 años
<b>ESTADIO 2</b>	Necesidad de ayuda para la deambulación. Afectación moderada a nivel de miembros inferiores, superiores y tronco	4,8±3,6 años
<b>ESTADIO 3</b>	Necesidad de empleo de silla de ruedas o encamado. Afectación sensitiva, motora y autonómica severa de todos los miembros	2,3±3,1 años

*Adaptada de: Adams D. Recent advances in the treatment of familial amyloid polyneuropathy. Ther Adv Neurol Disord. 2013;6:129-39<sup>(63)</sup>.*

- La afectación del sistema nervioso autónomo (SNA) es frecuente en la forma de ortostatismo, dishidrosis, alteración del ritmo intestinal, retención e incontinencia urinaria o disfunción eréctil, pudiendo ser ésta la primera manifestación de la enfermedad.
- Aunque la mayoría de mutaciones no implican la afectación del sistema nervioso central (SNC), la amiloidosis leptomeníngea está descrita en algunas mutaciones y puede cursar con demencia, ataxia, epilepsia, accidentes cerebrovasculares o parálisis espástica entre otras<sup>(12,37,51)</sup>.
- A pesar de haberse demostrado depósito de amiloide en pacientes con mutación V30M a nivel renal, la insuficiencia renal significativa solo se produce entre el 3% y el 6% de los pacientes<sup>(12,37,51)</sup> con ATTR.

#### 1.4.3. AMILOIDOSIS SENIL.

La Amiloidosis Senil es una enfermedad esporádica que fue descrita por primera vez en 1876 por Soyka<sup>(55)</sup>. La primera descripción fue seguida por la publicación de numerosos casos y pequeñas series en el siguiente siglo.

En 1965, Pomerance estimó una prevalencia de Amiloidosis Senil de alrededor del 10% en pacientes mayores de 80 años y del 50% en aquellos mayores de 90<sup>(66)</sup>. Un estudio posterior de autopsias con 85 pacientes mayores de 80 años encontró

depósito de TTR tanto en aurículas como a nivel del ventrículo izquierdo en 21 corazones, con una prevalencia del 25%<sup>(67)</sup>. En mayor detalle, sólo dos tercios de los pacientes con depósito tenían afectación de ventrículo izquierdo, descrito como difuso y en pequeña cuantía. El depósito con significación histológica se hallaba entre el 8% y el 16% de los mayores de 80 años. Más tarde, un estudio prospectivo de octogenarios finlandeses (Estudio Vantaa 85+) identificó depósito de TTR en el 25% de los corazones de 256 autopsias<sup>(68)</sup>. Una vez más, el depósito catalogado como moderado o severo sólo se documentó en el 5,55% de la población.

A pesar de las distintas cifras, aparentemente sólo en un porcentaje pequeño pero significativo de pacientes, los depósitos conducen a signos y síntomas de miocardiopatía. Estos datos plantean la posibilidad de que esta entidad esté infradiagnosticada en ancianos, un concepto apoyado por el aumento del conocimiento de la incidencia de IC con fracción de eyección de ventrículo izquierdo (FEVI) conservada en este grupo de pacientes<sup>(6)</sup>.

Por tanto, aunque raramente se diagnostica durante la vida, existe una evidencia creciente de que la Amiloidosis Senil es mucho más frecuente de lo que se ha considerado hasta ahora. En el centro de referencia para amiloidosis de Reino Unido, la Amiloidosis Senil constituía el 0,5% de los casos de todos los pacientes vistos hasta 2001 y desde 2009 ese porcentaje se ha incrementado hasta el 7% de cada 1100 casos<sup>(43)</sup>.

Lo que está claro es que la prevalencia de Amiloidosis Senil aumenta indiscutiblemente con la edad<sup>(35,55)</sup>. Por ello, dadas las previsiones del crecimiento de la población octogenaria en las próximas décadas, esta entidad constituirá la forma más frecuente de AC y se prevé que sea un problema de salud pública de primer orden<sup>(43,69)</sup>.

El precursor de las fibras de amiloide en Amiloidosis Senil es la TTR nativa o *wild type* (*wtTTR*), es decir, TTR con una composición normal de aminoácidos<sup>(11)</sup>, aunque se han observado también fragmentos con truncamiento C-terminal, con inicio en las posiciones del 46 al 52<sup>(57)</sup>. La TTR nativa tiene una propensión amiloidogénica intrínseca. Por mecanismos de degeneración no conocidos, la agregación y su depósito se incrementa con el tiempo.

Parece existir una asociación entre Amiloidosis Senil y la historia previa de infartos, polimorfismos del exón 24 en  $\alpha$ 2-macroglobulina G/G (Val/Val) y el haplotipo H2 del gen *tau*<sup>(68)</sup>. La asociación de *tau* con la enfermedad de Alzheimer formula la pregunta de si ambas entidades son enfermedades amiloides por envejecimiento.

Se trata de una enfermedad predominantemente cardíaca y la única manifestación extracardíaca es el STC. Hasta el 34% de las biopsias obtenidas en la descompresión del STC en ancianos mostraron depósito de TTR nativa<sup>(6)</sup>. La historia previa de síntomas compatibles con STC frecuentemente precede a la Amiloidosis Senil en 3-5 años<sup>(50)</sup> y por su asociación, se ha promulgado como un *red flag* en pacientes ancianos.

Se cree que el depósito comienza años antes del inicio de las alteraciones cardiológicas<sup>(35)</sup> y a pesar del predominio cardíaco, los depósitos de TTR nativa pueden estar presentes de forma dispersa por todo el organismo sin causar síntomas. Predominan los depósitos a nivel pulmonar, pero también en el tracto gastrointestinal, hígado, bazo y glándulas endocrinas<sup>(32)</sup>. Estudios de autopsia también lo han encontrado en la medulla ósea y en la lengua<sup>(32)</sup>. Aunque la afectación renal es poco frecuente, la insuficiencia renal puede aparecer en fases avanzadas de la enfermedad cuando el gasto cardíaco disminuye<sup>(32)</sup>. De forma anecdótica, en una serie reciente de 99 pacientes, el 4% de ellos se diagnosticó a raíz de hematuria o por el hallazgo incidental de amiloide en la histología urinaria<sup>(35)</sup>.

En este sentido, estudios recientes han sugerido que el depósito de amiloide por TTR nativa puede ser la causa también de otras alteraciones, como radioculomiopatía, necrosis de lengua, depósitos nodulares pulmonares y en ligamentos espinales<sup>(57)</sup>.

El diagnóstico de Amiloidosis Senil es excepcional antes de los 60 años. El inicio típico es a partir de la década de los 70. Sin embargo, el paciente más joven documentado con demostración histológica de Amiloidosis Senil tenía 58 años<sup>(26)</sup>.

Históricamente se ha resaltado la predominancia en el género masculino, constituyendo hasta el 85% de los casos<sup>(26)</sup>. Hasta el momento se ha apuntado simplemente a vagos factores que podrían justificar este hecho, como factores hormonales. Los niveles plasmáticos de TTR podrían ser mayores por las diferencias hormonales y/o la desestabilización de TTR en situaciones de inflamación o isquemia. Esto podría apoyarse en el aumento de las concentraciones de interleukina 6 en ancianos varones<sup>(70)</sup>. Sin embargo, el estudio finlandés de autopsias no documentó una predominancia en varones pero sí una mayor tinción de amiloide (mayor umbral de amiloide) respecto a las mujeres<sup>(55)</sup>.

Hasta ahora la historia natural de la enfermedad se ha conocido a través de estudios con escaso número de pacientes. Recientemente se han publicado las características de la cohorte más grande de pacientes hasta el momento<sup>(35)</sup>. El principal cuadro de

presentación es, de forma casi invariable, como IC<sup>(32)</sup>. Al igual que la Amiloidosis Hereditaria por mutación en V122I, generalmente se confunde con cardiopatía hipertensiva.

#### 1.4.4. DIAGNÓSTICO DE AMILOIDOSIS POR TRANSTIRETINA.

El diagnóstico de Amiloidosis cardíaca por TTR constituye un reto dada la ausencia de análisis sanguíneos específicos que ayuden a realizar un *screening* inicial<sup>(71)</sup>.

El diagnóstico AC se puede inferir en el contexto de demostración histológica de amiloide a otro nivel junto con una combinación de síntomas clínicos, electrocardiográficos y analíticos<sup>(1)</sup>. Según el consenso del *10th International Symposium on Amyloidosis* celebrado en Francia en 2004, el criterio ecocardiográfico quedó definido por la presencia de hipertrofia ventricular izquierda con un punto de corte de 12mm. a nivel septal en ausencia de otras causa de hipertrofia ventricular izquierda como HTA o estenosis aórtica (EAo)<sup>(32,72)</sup>. Este criterio, aplicado inicialmente en amiloidosis AL, se extendió posteriormente al resto de formas de amiloidosis dado que no existen criterios específicos establecidos para ATTR<sup>(35,55)</sup>. Este criterio no considera las diferencias en el grosor normal según el género y confiere un alto grado de sensibilidad pero una baja especificidad para la identificación de la afectación cardíaca<sup>(55)</sup>.

En cuanto al rendimiento real de biopsias no cardíacas en pacientes con sospecha de ATTR, existen pocos estudios con escaso número de pacientes. En Amiloidosis Senil, dada la afectación cardíaca exclusiva, la rentabilidad es aparentemente menor aunque varía desde el 18% al 73% según las series<sup>(55)</sup>.

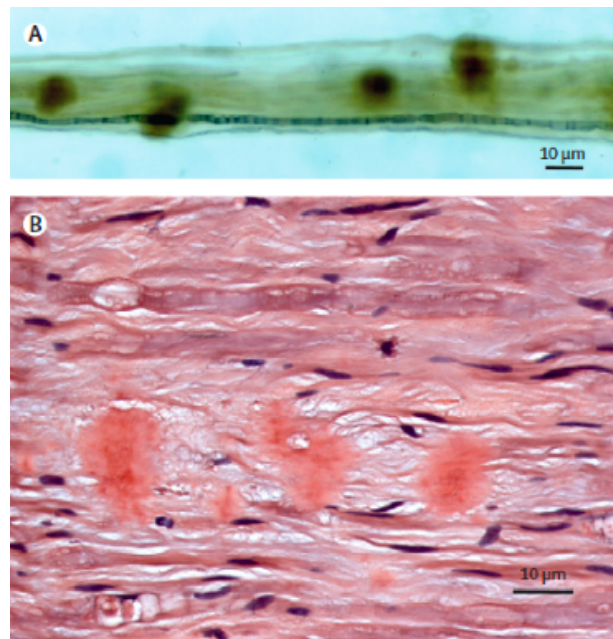
Recientemente se han publicado los datos del estudio con el mayor número de pacientes con ATTR hasta la fecha. Se incluyeron 286 pacientes, 65% con formas hereditarias y 35% de Seniles<sup>(71)</sup>. Casi todos los pacientes con FAP tenían una biopsia positiva frente a un tercio de pacientes de la forma Senil. La biopsia más empleada fue la de grasa abdominal, resultando positiva en 2 de cada 3 pacientes con FAP y sólo en una pequeña proporción de pacientes de la forma Senil (14%). La segunda biopsia realizada con más frecuencia fue la de médula ósea, positiva en el 41% de pacientes con FAP y un tercio de los Seniles. Con estos resultados, sería razonable empezar por biopsias no cardíacas sobre todo en FAP mientras que la mayoría de pacientes con sospecha de Amiloidosis Senil necesitarán BEM<sup>(71)</sup>. El empleo de la biopsia de médula

ósea puede de ser de utilidad en pacientes con sospecha de Amiloidosis Senil y presencia de GMSI y/o elevación de cadenas ligeras FreeLite para excluir amiloidosis AL y mieloma múltiple.

En el caso de Amiloidosis con afectación neuropática, el depósito de amiloide en el espacio endoneural en una biopsia de nervio permite establecer el diagnóstico<sup>(12)</sup> (*Ilustración 18*). La biopsia del nervio sural es menos sensible por la presencia parcheada del amiloide<sup>(37)</sup>.

*Ilustración 18. Depósitos de amiloide en el endoneuro en paciente con Polineuropatía amiloide hereditaria.*

**A)** Ovillos de amiloide dispersos en el endoneuro de paciente portador de mutación V30M. **B)** Sección longitudinal de muestra de biopsia de nervio embebida en parafina en portador de mutación V30M, con tinción Rojo Congo.



*Fuente: Planté-Bordeneuve V, Said G. Familial amyloid polyneuropathy. Lancet Neurol. 2011;10:1086-97<sup>(12)</sup>.*

En pacientes con síntomas y signos sugestivos de amiloidosis por TTR, una biopsia negativa no se debe interpretar como la exclusión de la enfermedad<sup>(37)</sup>.

El papel de la BEM queda por tanto reservada para aquellos casos en los que no se consigue demostración histológica extracardíaca o en los que la cardiopatía es la única afectación. Cuatro muestras precedentes de BEM aseguran una sensibilidad del 100%<sup>(1)</sup>. Aunque complicaciones como la perforación o el daño de la válvula tricúspide<sup>(26)</sup> están descritas, el riesgo real es bajo, entorno al 1-2%, sobre todo en

manos experimentadas<sup>(35,54)</sup>. A diferencia de lo que ocurre en otras miocardiopatías infiltrativas como la sarcoidosis, la AC no se ve afectada por error de muestreo<sup>(55)</sup>.

En cuanto al diagnóstico diferencial entre ATTR Hereditaria y Senil se basa únicamente en el estudio genético. De hecho, a excepción de la edad, ningún otro dato clínico o hallazgo permite diferenciarlas de forma significativa<sup>(62)</sup>. La amplificación por reacción en cadena de polimerasa (PCR) y la secuenciación de los exones 1 a 4 de TTR establece el diagnóstico definitivo de mutación o forma Senil.

El diagnóstico de Amiloidosis Senil se basa por tanto en la demostración histológica de amiloidosis TTR a nivel cardíaco y la ausencia de mutaciones en el gen TTR<sup>(51)</sup>.

Para la forma hereditaria, la confirmación genética de variación en TTR permite además la realización de consejo genético y el análisis de familiares. Éste debe realizarse siguiendo las guías empleadas en otras enfermedades neurodegenerativas autosómico dominantes<sup>(12)</sup>. Otros métodos como el diagnóstico prenatal o preimplantacional se pueden ofrecer en familias con inicio precoz<sup>(3,12)</sup>.

Aunque la espectrometría de masas puede diferenciar la diferente masa entre la proteína nativa y la TTR mutada en sangre, no especifica el lugar ni el tipo de sustitución de aminoácido, por lo que se requiere igualmente secuenciación de ADN<sup>(37)</sup>.

Tradicionalmente la ecocardiografía se ha considerado la prueba de elección para el diagnóstico no invasivo de AC. Tanto el ecocardiograma como el electrocardiograma (ECG) tienen un papel establecido en el diagnóstico de AC. Sin embargo, ninguna de las dos técnicas proporciona información sobre el subtipo y además, su papel en el diagnóstico precoz o en las formas leves tiene una baja especificidad. En los últimos años, tanto la resonancia magnética cardíaca (RMC) como la gammagrafía con pirofosfatos han irrumpido en la evaluación de la afectación cardíaca de estos pacientes. Particularmente, la gammagrafía cardíaca proporciona una aproximación al subtipo de amiloide. Por todo ello, la tendencia se dirige al uso de múltiples modalidades de pruebas no invasivas de imagen<sup>(45)</sup>.

#### 1.4.4.1. EL ELECTROCARDIOGRAMA EN AMILOIDOSIS CARDÍACA.

Existen pocos estudios que hayan revisado específicamente las características electrocardiográficas en AC por TTR<sup>(6,73)</sup>.

Clásicamente la combinación de bajos voltajes y un incremento de los grosores ventriculares ha sido considerado como altamente sospechoso de AC.

En la práctica clínica, el criterio más ampliamente utilizado para considerar la presencia de bajo voltaje por su facilidad en la estimación visual es una amplitud de QRS inferior a 0,5mV en derivaciones de los miembros y menor a 1mV en derivaciones precordiales<sup>(1,45,73)</sup>. Entre los distintos estudios, existe una gran variación en las cifras publicadas, desde el 46% al 70%. Estas diferencias pueden deberse en parte a la variabilidad en el grado de afectación en el momento del análisis<sup>(73)</sup> y a las diferencias en el criterio empleado. Las razones precisas de la aparición de bajo voltaje no se conocen pero la atrofia de miocitos puede ser un factor contribuyente<sup>(45)</sup>. En un análisis multivariante, el bajo voltaje se asoció en ATTR hereditaria al desarrollo de eventos en la evolución<sup>(50)</sup>.

Sin embargo, algunos pacientes con AC cumplen criterios electrocardiográficos de hipertrofia ventricular o presentan voltajes normales, sobre todo si existía una cardiopatía hipertensiva subyacente. Por tanto, el voltaje no es un criterio sensible para sospechar amiloidosis<sup>(26)</sup> y por ello, de forma adicional, se describió un criterio de proporción o *ratio* voltaje-masa<sup>(74)</sup>.

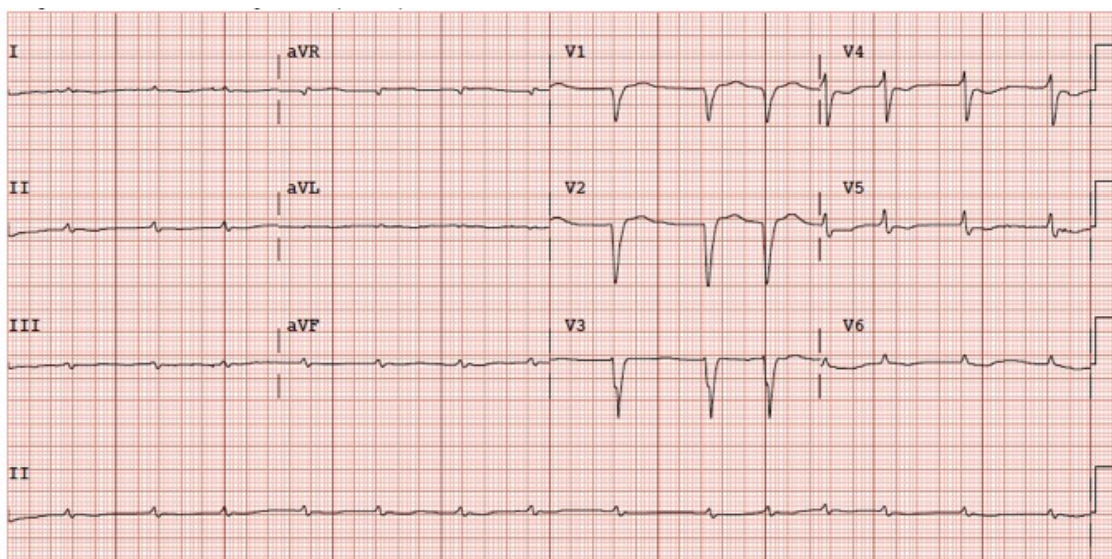
La presencia de trastornos de conducción intraventricular y el bloqueo aurículoventricular (BAV) han sido descritos en todas las cohortes de pacientes con ATTR (*Ilustración 19*). El bloqueo aurículoventricular de primer grado se ha identificado hasta en el 56% de los pacientes con mutación V122I y se ha correlacionado con la necesidad de implante de marcapasos<sup>(75)</sup>. También pueden aparecer bloqueo de rama derecha o izquierda (BRD/BRI), bloqueos de segundo y tercer grado (3%), FA o flutter (20%) y taquicardia ventricular (5%)<sup>(43)</sup>.

Típicamente puede aparecer un patrón de pseudoinfarto, en ausencia de antecedente de infarto, siendo más frecuente en precordiales frente a derivaciones inferiores (*Ilustración 19*).

También se han descrito T negativas, prolongación del intervalo QTc y anomalías en los post-potenciales tardíos<sup>(32)</sup>.

*Ilustración 19. ECG de 12 derivaciones en paciente con Amiloidosis cardíaca.*

*El ECG muestra fibrilación auricular, bajos voltajes en derivaciones de los miembros y patrón de pseudoinfarto en precordiales.*



*Fuente: ECG procedente de paciente con Amiloidosis cardíaca en seguimiento por la Unidad de Cardiopatías Familiares del Hospital Puerta de Hierro.*

Existen algunas claves electrocardiográficas que permiten diferenciar amiloidosis AL de ATTR:

El hallazgo del bajo voltaje es menos frecuente en ATTR que en AL, con porcentajes publicados entorno al 30-40% frente al 60% en series de amiloidosis AL<sup>(6,55)</sup>. De hecho, en pacientes con la variante V122I no se ha encontrado este patrón, posiblemente por la alta prevalencia de signos de hipertrofia ventricular en el ECG de pacientes afrocaribeños<sup>(6)</sup>. La FA, el BRI y otros trastornos de conducción son más frecuentes<sup>(55)</sup> en ATTR, especialmente en la forma Senil (hasta en el 40%), frente al 4% en pacientes con amiloidosis AL<sup>(50,55)</sup>.

En contraposición, un estudio reciente no encontró diferencias entre los tres tipos principales de AC<sup>(73)</sup>, pudiendo deberse a lo avanzado de la enfermedad. De hecho, este estudio, con 45 pacientes con Amiloidosis Senil, 45 con Amiloidosis Hereditaria por TTR y 110 con amiloidosis AL no encontró diferencias significativas en los ECG de los tres grupos excepto en la prevalencia de FA y BAV de segundo grado en pacientes con Amiloidosis Senil.



#### 1.4.4.2. LA ECOCARDIOGRAFÍA EN AMILOIDOSIS CARDÍACA.

El ecocardiograma constituye la piedra angular del diagnóstico no invasivo de AC<sup>(76)</sup>.

Ninguna característica ecocardiográfica es específica y no es posible distinguir los diferentes tipos de amiloidosis por características ecocardiográficas<sup>(32,58)</sup>.

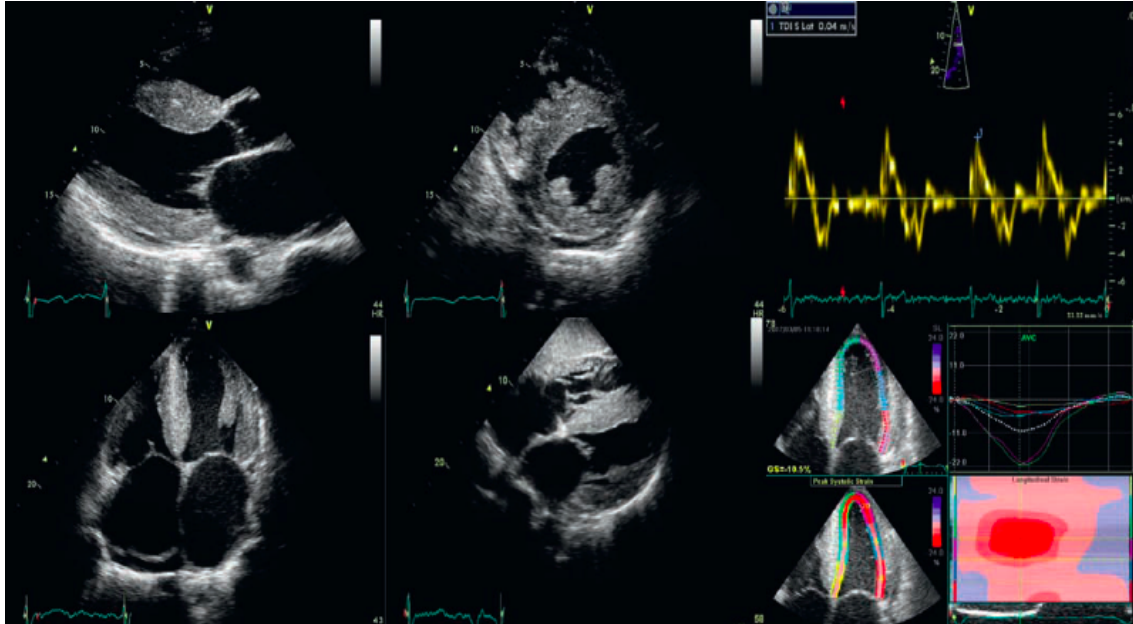
Los hallazgos típicos de hipertrofia concéntrica con afectación biventricular por infiltración, no por hipertrofia de micocitos (*Ilustración 20*) y la disfunción biventricular longitudinal con fracción de eyección (FEVI) normal o casi normal, se encuentran en fases avanzadas de la enfermedad. La disfunción longitudinal precede a la circunferencial o radial y es desproporcionada en comparación con otras miocardiopatías y respecto a la reducción de la FEVI<sup>(1,51)</sup>.

Aunque típicamente la hipertrofia ventricular izquierda sigue un patrón concéntrico, se ha observado que la distribución septal asimétrica es más propia de pacientes con formas hereditarias que con amiloidosis AL<sup>(1)</sup>.

Los ventrículos no están dilatados en esta entidad<sup>(51)</sup>. La FEVI suele ser normal o levemente reducida. Sin embargo, la evaluación de la función sistólica por FEVI tiene sus limitaciones<sup>(6)</sup>. Recientemente se ha propuesto el empleo de la Fracción de contracción miocárdica (FCM) como índice de función miocárdica superior a la FEVI en la evaluación de estos pacientes. FCM se define como el *stroke volume* por el volumen miocárdico. Un estudio reciente ha evaluado su utilidad en la predicción de la supervivencia en una cohorte de pacientes con AL y ATTR. En los pacientes con AL, FCM fue superior a la FEVI en predecir la supervivencia global<sup>(77)</sup>.

*Ilustración 20. Ecocardiograma de paciente con variante V122I y fibrilación auricular.*

*El ecocardiograma muestra hipertrofia concéntrica de ventrículo izquierdo (22mm.) con aumento de la ecogenicidad, hipertrofia de ventrículo derecho, dilatación biauricular y derrame pericárdico. Doppler tisular en cuadrante superior derecho con reducción de la función longitudinal. Strain longitudinal en cuadrante inferior derecho con reducción del strain basal en comparación con el ápex.*



*Adaptada de: Dungu JN, Anderson LJ, Whelan CJ, Hawkins PN. Cardiac transthyretin amyloidosis. Heart. 2012;98:1546-54<sup>(6)</sup>.*

La disfunción diastólica es la alteración ecocardiográfica más precoz y puede ocurrir antes del inicio de los síntomas. Su progresión se correlaciona con el progreso de la enfermedad, pudiendo llegar a presentar un patrón restrictivo y tiempos de desaceleración cortos en fases avanzadas<sup>(1,32)</sup>.

Aunque tradicionalmente se ha considerado a la AC como una forma de MCR, la mayoría de los pacientes de las series publicadas no mostraban patrones de llenado restrictivo, marcador no invasivo clave para el diagnóstico de la fisiopatología restrictiva<sup>(50)</sup>.

El aspecto granular del miocardio, “*sparkling o speckled*”, aunque característico de la amiloidosis, es un hallazgo inexacto y que se puede encontrar en otras causas de hipertrofia. Además, la llegada del segundo armónico a la imagen ha reducido su valor predictivo positivo para la detección de amiloidosis<sup>(1,6)</sup> (*Ilustración 20*).

Los trombos, más frecuentes a nivel auricular, pueden incluso aparecer en ausencia de FA por la disociación electromecánica en casos de parálisis auricular<sup>(32)</sup>.

Otros hallazgos que apoyan el diagnóstico de AC son la dilatación auricular, la presencia de derrame pericárdico (*Ilustración 20*) y el engrosamiento del tabique

interauricular, músculos papilares y válvulas. Estos signos se han descrito hasta en el 40-60% de los pacientes a excepción del engrosamiento del septo interauricular que es menos frecuente. Sin embargo, los datos provienen de series muy seleccionadas con pacientes en fases avanzadas de la enfermedad<sup>(1)</sup>. La infiltración de las válvulas, con la aparición de nódulos o engrosamiento difuso, suele producir insuficiencias valvulares leves. Las insuficiencias severas son muy raras<sup>(32)</sup> y el engrosamiento del tabique es muchas veces difícil de medir de forma adecuada<sup>(6)</sup>.

En cuanto a las diferencias entre subtipos, la Amiloidosis Senil presenta mayores grosores medios (3 ó 4 mm más que la amiloidosis AL o la forma hereditaria) y mayor masa<sup>(50,55)</sup> (*Tabla 12*). La FEVI varía de forma considerable, tendiendo a ser normal en la TTR hereditaria, entorno a un valor en el límite bajo de lo normal en AL y anormalmente baja en Amiloidosis Senil, probablemente como consecuencia de un diagnóstico tardío<sup>(50,55)</sup>. El diámetro auricular suele ser normal en la forma hereditaria y aumentado en la Amiloidosis Senil. El engrosamiento valvular suele ser bastante frecuente en formas por TTR probablemente en relación a la duración de los depósitos. La presencia de derrame pericárdico y también los derrames pleurales son más frecuentes en amiloidosis AL.

Las diferencias entre subtipos pueden explicarse por diversos factores. Distintos tipos de precursores pueden originar diferentes grados de daño miocárdico. El depósito gradual de formas TTR puede, por ejemplo, permitir el desarrollo de mecanismos de compensación, a diferencia de lo que ocurre en amiloidosis AL<sup>(50)</sup>.

**Tabla 12. Características principales y criterios diagnósticos de las tres formas más frecuentes de amiloidosis cardíaca.**

	<b>TTR Hereditaria</b>	<b>AL</b>	<b>Senil</b>
<b>Características</b>			
Engrosamiento ventricular	Moderado	Leve	Severemente
FEVI	Algo reducida	Minimamente reducida	Sustancialmente reducida
Engrosamiento válvulas AV	~ 60%	~ 50%	~ 50%
Disfunción diastólica	~ 30%	~ 50%	~ 33%
Disfunción sistólica	Rara	< 25%	~ 40%
Bajo voltaje QRS	~ 25%	~ 66%	~ 40%
Bloqueo rama izquierda	Raro	Raro	~ 40%
Captación gammagrafía TcDPD	Intensa	Ausente o leve	Intensa
IC avanzada	Moderadamente frecuente	Muy frecuente	Frecuente
Supervivencia a 2 años	98%	60%	100%
<b>Criterios diagnósticos</b>			
Mutación en gen TTR	Presente	Ausente	Ausente
Discrasia células sanguínea	Ausente (Posible GMSI coexistente)	Constante	Ausente (Posible GMSI coexistente)
Biomarcadores en suero (NTproBNP y Troponina)	Aumento menor que AL	Muy aumentados	Aumentados
Inmunohistoquímica	TTR + (leve positividad para $\lambda$ y $\kappa$ - fisiológica)	$\lambda$ y $\kappa$ +, TTR negativa	TTR + (leve positividad para $\lambda$ y $\kappa$ - fisiológica)

*Adaptada de: Rapezzi C, Quarta CC, Riva L, Longhi S, Gallelli I, Lorenzini M, Ciliberti P, Biagini E, Salvi F, Branzi A. Transthyretin-related amyloidoses and the heart: a clinical overview. Nat Rev Cardiol. 2010;7:398-408<sup>(51)</sup>.*

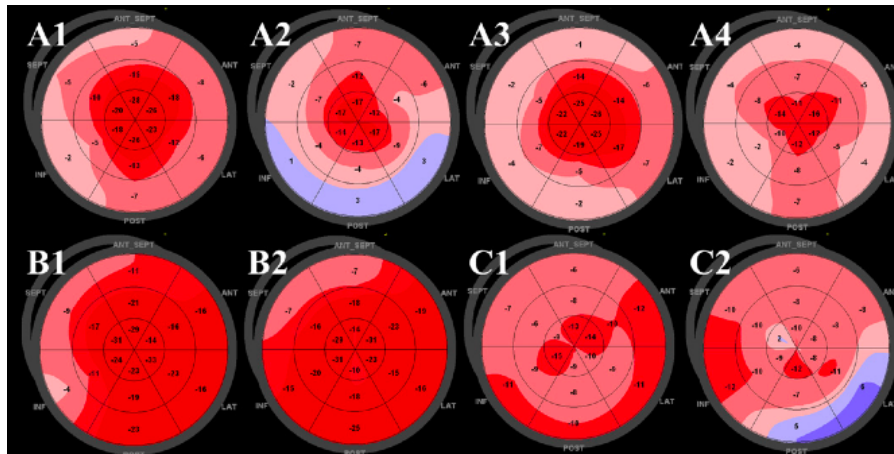
Nuevas técnicas ecocardiográficas como el *strain* y el *strain rate* han irrumpido en los últimos años. Su aplicación en la evaluación de la AC ha experimentado un interés creciente. Además de ayudar al diagnóstico, han permitido conocer más sobre la fisiopatología subyacente. Tras la constatación inicial de una reducción global del *strain* o deformación longitudinal, no específico, puesto que puede encontrarse en cualquier miocardiopatía con disfunción ventricular, la atención se centró en la evaluación regional. El primer estudio que evaluó el *strain* regional mediante *speckle tracking* observó una reducción marcada del *strain* longitudinal en todos los segmentos basales y medios, obteniendo una sensibilidad del 93% y una especificidad del 82% en el diagnóstico de AC<sup>(78)</sup>.

Este patrón típico o en “*ojo de toro*”<sup>(6,45)</sup> (Ilustraciones 20 y 21) puede ayudar a diferenciar la AC de otras miocardiopatías como la hipertensiva o la MCH, en la que puede encontrarse reducción de los valores en el septo o en el lugar de mayor hipertrofia pero con valores normales o mayores en el resto de segmentos. La

hipótesis que explicaría este hecho es la existencia de un menor depósito de amiloide en el ápex y por tanto menor resistencia a la deformación y, por reciprocidad, un aumento de la contracción miocárdica a nivel apical.

*Ilustración 21. Representación en 2D de los patrones de strain longitudinal.*

**A1-4)** Patrón de respeto apical en amiloidosis cardíaca. **B1,2)** Afectación aislada del strain longitudinal septal en MCH. **C1,2)** Reducción parcheada del strain longitudinal en hipertrofia ventricular izquierda secundaria a estenosis aórtica.



Fuente: Phelan D, Collier P, Thavendiranathan P, Popović ZB, Hanna M, Plana JC, Marwick TH, Thomas JD. Relative apical sparing of longitudinal strain using two-dimensional speckle-tracking echocardiography is both sensitive and specific for the diagnosis of cardiac amyloidosis. *Heart*. 2012;98:1442-8<sup>(78)</sup>.

Otro estudio documentó un ratio ápex/base de *strain* longitudinal  $>2.1$  en AC que permitía distinguirla de otras causas de hipertrofia con una sensibilidad del 88%, una especificidad del 85%, un valor predictivo positivo del 67% y un valor predictivo negativo del 96%<sup>(45)</sup>. Además, el *strain* medio de los segmentos basales del ventrículo izquierdo se ha postulado como un predictor independiente de mortalidad cardiovascular y global<sup>(76)</sup>. Se necesitarán más estudios con mayor número de pacientes para determinar la contribución real de la alteración regional por *strain* en el pronóstico de ATTR<sup>(76)</sup>.

Tras la aplicación de las técnicas de *speckle-tracking* mayoritariamente en pacientes con amiloidosis AL, en la serie más grande de ATTR recientemente publicada, se ha confirmado el papel de esta técnica como herramienta sensible para la caracterización de la disfunción ventricular en ATTR frente a los parámetros ecocardiográficos tradicionales<sup>(76)</sup>. En esta cohorte, la función longitudinal del ventrículo izquierdo se mostró como un predictor independiente de supervivencia global, en el mismo sentido que los hallazgos previamente publicados en amiloidosis AL. De hecho, a pesar de los diferentes orígenes en su patogenia, se observaron grados similares de disfunción por

*strain* longitudinal y radial en amiloidosis AL y Senil, con mejores datos funcionales en ATTR hereditaria. Los segmentos apicales estaban preservados de forma independiente al subtipo y al grosor de ventrículo izquierdo.

#### 1.4.4.3. BIOMARCADORES EN AMILOIDOSIS CARDÍACA POR TRANSTIRETINA.

El péptido natriurético cerebral (BNP) se incrementa como consecuencia de la elevación de presiones de llenado ventricular mientras que la troponina se eleva como resultado de la muerte de miocitos<sup>(55)</sup>.

Tanto BNP o NTproBNP como troponina han demostrado ser muy útiles en pacientes con amiloidosis AL. Sin embargo, existen escasos datos sobre su papel en otras formas de amiloidosis.

En ATTR, aunque pueden ser marcadores de progresión, se dispone de muy pocos datos sobre la utilidad pronóstica de ambos<sup>(55)</sup>. Sin embargo, con objetivo diagnóstico, ambos pueden servir de apoyo de la presencia de miocardiopatía por amiloidosis. Un estudio correlacionó el BNP con el grosor ventricular y la FEVI en 29 pacientes con ATTR<sup>(6,32)</sup> y recientemente otro estudio sugirió que la troponina era un predictor pronóstico más importante que el BNP en ATTR<sup>(35)</sup>.

#### 1.4.4.4. RESONANCIA MAGNÉTICA CARDÍACA EN AMILOIDOSIS CARDÍACA.

Clásicamente, el diagnóstico de afectación cardíaca por Amiloidosis se ha realizado principalmente por ecocardiografía. Sin embargo, esta técnica tiene algunas limitaciones, especialmente si existe hipertrofia por otras causas o cuando la calidad de la imagen es deficiente<sup>(1,79)</sup>.

La Resonancia magnética cardíaca (RMC) proporciona una mayor resolución espacial y mayor *ratio* señal/ruido<sup>(45)</sup>, aunque el ecocardiograma sigue siendo superior en la evaluación y cuantificación de la alteración diastólica<sup>(43)</sup> (*Ilustración 22*). Permite una mayor delineación del borde miocárdico y una aproximación en 3 dimensiones a la cuantificación de los volúmenes ventriculares, el grosor de pared y la masa.

Por contra, se trata de una técnica más cara, menos accesible y con limitaciones<sup>(55)</sup>. Está contraindicada en pacientes con dispositivos como marcapasos o desfibriladores

y aquellos que padecen claustrofobia. La FA puede limitar la calidad de las imágenes y se requiere una cooperación del paciente para mantener la respiración durante una exploración de entre 30 y 45 min<sup>(43,45,55)</sup>.

La RMC con contraste de gadolinio (Gd) tiene la ventaja sobre otras técnicas de imagen de ser capaz de visualizar de forma directa miocardio no viable, permitiendo una caracterización tisular<sup>(45)</sup>. Además de su valor en pacientes con enfermedad coronaria, ha demostrado también tener un papel predominante en miocardiopatías no isquémicas.

El Gd, un trazador extracelular inerte, se acumula y expande en el espacio intersticial sin poder atravesar las membranas celulares íntegras<sup>(80)</sup>. En el miocardio normal, en el que el volumen tisular es predominantemente intracelular, el volumen de distribución es normalmente bajo y no se encuentra realce tardío. Cuando se incrementa el espacio extracelular, las concentraciones de Gd se incrementan entre la trama de miocitos<sup>(81)</sup>. La eliminación de Gd es renal, por lo que su administración está contraindicada en pacientes con insuficiencia renal con aclaramientos de creatinina inferiores a 30mL/min por el riesgo de fibrosis sistémica nefrogénica<sup>(45,55,82)</sup>.

El realce tardío es una técnica cualitativa que se basa en una diferencia de intensidad de señal entre el miocardio sano y el miocardio anómalo. Su desarrollo a finales de la década de los 90 revolucionó la aplicación clínica de la RMC en miocardiopatías isquémicas y no isquémicas.

Permite determinar la presencia de alteraciones en condiciones en las que el espacio intersticial miocárdico está incrementado por una mayor concentración regional de gadolinio y una lenta cinética en el miocardio normal. Este aumento del espacio extracelular, resultado de la fibrosis, ocurre en el infarto de miocardio crónico, en la MCH y probablemente también en la dilatada<sup>(79)</sup>. Se han descrito patrones variables de realce tardío en una amplia variedad de cardiopatías.

Por tanto, en la última década, la RMC y las técnicas de realce tardío han sido validadas como medio para identificar afectación cardíaca, ayudando al diagnóstico. Además, ha cobrado interés su correlación con el pronóstico y la estratificación de pacientes.

La caracterización tisular mediante RMC con Gd en amiloidosis cardíaca se basa en:

1. *Realce tardío.*
2. *Prolongación anormal del tiempo T1.*
3. *Expansión del volumen extracelular.*

### **1. Realce tardío.**

La presencia de realce tardío en amiloidosis cardíaca fue reportada por primera vez por Perugini et al. en un grupo de 21 pacientes con diagnóstico definitivo de AC. De los 21 pacientes, 16 mostraron realce tardío, sin aparente relación entre éste y datos clínicos, funcionales o histológicos<sup>(81)</sup>.

El mismo año, el estudio de Maceira et al.<sup>(79)</sup> confirmó que el realce tardío puede estar causado por un aumento del espacio intersticial, no por fibrosis. En 20 de los 29 pacientes con amiloidosis cardíaca se encontró un patrón anormal y característico de realce tardío de predominio subendocárdico que coincidía con la distribución transmural del amiloide (*Ilustración 22*).

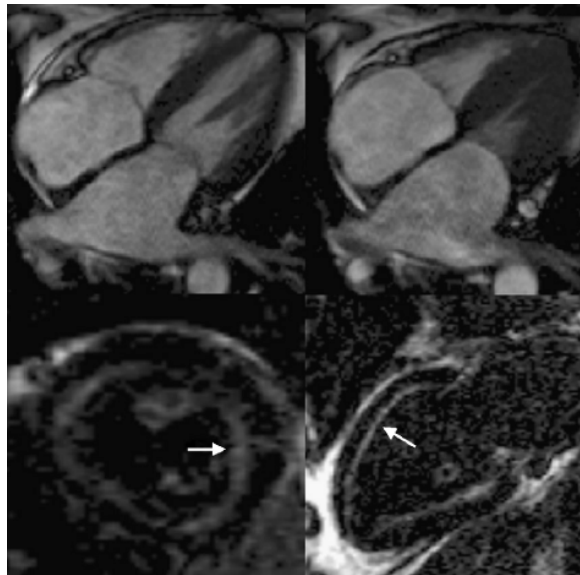
La adquisición de las imágenes de realce tardío se llevó a cabo de forma precoz respecto a los 10-15min. clásicos dado que el realce tardío en AC se enfrenta a la igualación de T1 entre el subendocardio y el subepicardio a los 8 minutos de la administración de Gd<sup>(83)</sup>. La variación de la cantidad de realce transmural (42,4% subendocárdico frente a un 17,6% subepicárdico) demostró que la causa del realce se debe al aumento del espacio intersticial más que a la leve fibrosis difusa, sólo presente en un 1,3%<sup>(79)</sup>. El patrón de realce tardío observado en este estudio, subendocárdico, difuso y global, era diferente al objetivado en infarto crónico de miocardio y otras miocardiopatías.

Además, se demostró una alteración de la cinética de Gd, con valores bajos de T1 (tiempo de relajación subendocárdico) y dificultad para anular el miocardio.



*Ilustración 22. Resonancia magnética de dos pacientes con amiloidosis.*

*Imágenes superiores: Planos de cine de cuatro cámaras en diástole (izquierda) y sístole (derecha). Imágenes inferiores: Captación de contraste a nivel subendocárdico (flechas) en eje corto (izquierda) y apical de dos cámaras (derecha).*



*Fuente: García-Pavía P, Tomé-Esteban MT, Rapezzi C. Amiloidosis Cardíaca. También una enfermedad del corazón. Rev Esp Cardiol. 2011;64:797-808<sup>(1)</sup>.*

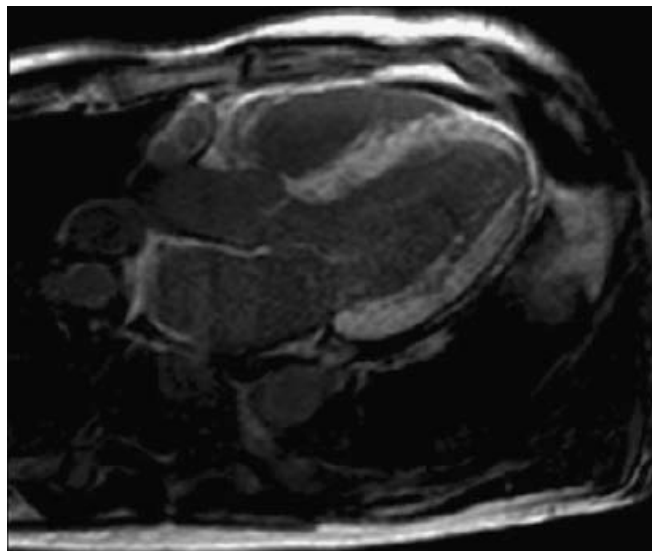
Otras entidades como la fibrosis endomiocárdica pueden originar un patrón de realce tardío similar. Sin embargo, además de las diferencias clínicas, el empleo de los valores de T1 miocárdico permiten discriminar ambas entidades<sup>(79)</sup>.

Estudios posteriores reforzaron los hallazgos de Maceira et al.<sup>(82,83)</sup> y otros estudios han descrito otros patrones de realce tardío más infrecuentes como el medioventricular, subepicárdico, parcheado, una anulación miocárdica subóptima e incluso la ausencia de realce tardío<sup>(82,83)</sup> (*Ilustración 23*).

La ausencia de realce tardío en pacientes con afectación histológica leve parece indicar la existencia de un nivel umbral requerido para la aparición del realce tardío o la presencia de depósitos por debajo del umbral de detección del realce tardío<sup>(82)</sup>.

*Ilustración 23. Ejemplo de patrón de realce tardío transmural en paciente con Amiloidosis Senil.*

*Se emplearon secuencias Look-Locker (T1 scouts seriadas) para descartar la inadecuada anulación del miocardio. Además, hipertrofia biventricular y realce auricular.*



*Fuente: Dungu JN, Anderson LJ, Whelan CJ, Hawkins PN. Cardiac transthyretin amyloidosis. Heart. 2012;98:1546-54<sup>(6)</sup>.*

Los distintos patrones de realce tardío pueden estar asimismo influenciados por factores técnicos incluyendo la dosis de Gd administrada, los tiempos para la adquisición de imágenes tras la administración de Gd y la selección del tiempo T1. Fuera de los estudios y en ausencia de sospecha de AC, tiempos cortos de adquisición son excepcionales y el patrón considerado típico de realce subendocárdico puede ser más aparente con tiempos cortos cuando las diferencias transmiocárdicas de T1 son máximas<sup>(79,82)</sup>.

La selección del tiempo de inversión para la adquisición correcta de las secuencias de inversión recuperación es clave y puede ser difícil. Ocasionalmente no se consigue anular apropiadamente la señal miocárdica<sup>(1)</sup>. Esto debe hacer sospechar AC en la práctica clínica habitual<sup>(82)</sup>.

El patrón característico de realce tardío subendocárdico se corresponde con los hallazgos típicos post-*mortem* aunque la diversidad de otros patrones también coincide con la desigual y heterogénea distribución vista en las necropsias de algunos pacientes con AC. El aumento de realce tardío en los músculos papilares también se correlaciona con hallazgos post-*mortem* e incluso con la imagen de mayor densidad ecocardiográfica<sup>(83)</sup>. Sin embargo, otros estudios no encontraron correlación con el predominio subendocárdico<sup>(82)</sup>.

También se observa realce tardío difuso en ambas aurículas, característica de AC<sup>(45)</sup>.

Algunos trabajos han relacionado la presencia de realce tardío típico con mayor carga de amiloide y por tanto fases más avanzadas de la enfermedad frente a patrones como el parcheado o la anulación subóptima del miocardio con fases precoces, en ausencia de hipertrofia ecocardiográfica<sup>(43,82)</sup>.

## ***2. Prolongación anormal del tiempo T1.***

El tiempo T1 es un parámetro de relajación intrínseco del miocardio en RMC en el que se basa el realce tardío<sup>(55)</sup>.

Si el miocardio se anula en un tiempo T1 antes de que lo haga la sangre, esto indica la presencia de hiperrealce difuso y global, muy característico de AC<sup>(45,55)</sup>.

Estos valores largos de T1 se correlacionan con medidas morfológicas como la masa, el grosor miocárdico y la función diastólica<sup>(79)</sup> y pueden identificar la afectación cardíaca en estadios precoces en comparación con el realce tardío.

En los últimos años, la caracterización tisular por RMC ha investigado nuevas técnicas como el mapeo T1. Los mapas T1, que representan la distribución espacial de T1, emplean tanto valores nativos, es decir, sin el uso de Gd, como valores T1 post-contraste.

Las medidas del tiempo de relajación T1 sin empleo de contraste tienen el potencial de detectar aumento del espacio intersticial por edema miocárdico y fibrosis<sup>(84)</sup>. Este tiempo T1 mide una señal tisular combinada, intracelular (miocitos) y componentes extracelulares<sup>(85)</sup>. Las técnicas de mapeo T1 nativo (pre-contraste) habían sido estudiadas en otros órganos diferentes al corazón en pacientes con amiloidosis. Sus resultados preliminares llevaron a su aplicación en pacientes con amiloidosis AL y ATTR utilizando una secuencia de recuperación-inversión modificada y acortada. En amiloidosis AL<sup>(84)</sup> se encontraron valores más elevados respecto a controles con EAo y un grado similar de hipertrofia ventricular, reflejando un incremento de la proporción de amiloide frente a la fibrosis. Además, los tiempos se correlacionaron con marcadores de disfunción sistólica y diastólica y por otra parte, se encontraron valores aumentados en ausencia de evidencia de afectación cardíaca e incluso sin realce tardío, sugiriendo la posibilidad de poder ser un marcador de la carga de amiloide más sensible que el realce tardío.

En un estudio posterior y reciente, incluyendo pacientes con ATTR, aunque se observó cierto grado de solapamiento, los valores de T1 nativo se encontraban elevados tanto en amiloidosis AL como en ATTR en comparación con MCH y

voluntarios sanos. La elevación de T1 era menor en ATTR respecto a AL pudiendo deberse a un menor umbral de amiloide, hidratación del tejido, menor colágeno asociado al amiloide o distintos efectos en la señal intracelular. Además, estos valores mostraron una buena correlación con los hallazgos de la gammagrafía con DPD y la posibilidad de identificar expresión precoz de la enfermedad<sup>(85)</sup>.

Estas técnicas, por tanto, pueden ser útiles tanto para el diagnóstico como para el seguimiento, especialmente en pacientes con insuficiencia renal<sup>(84,85)</sup>.

### ***3. Expansión del volumen extracelular.***

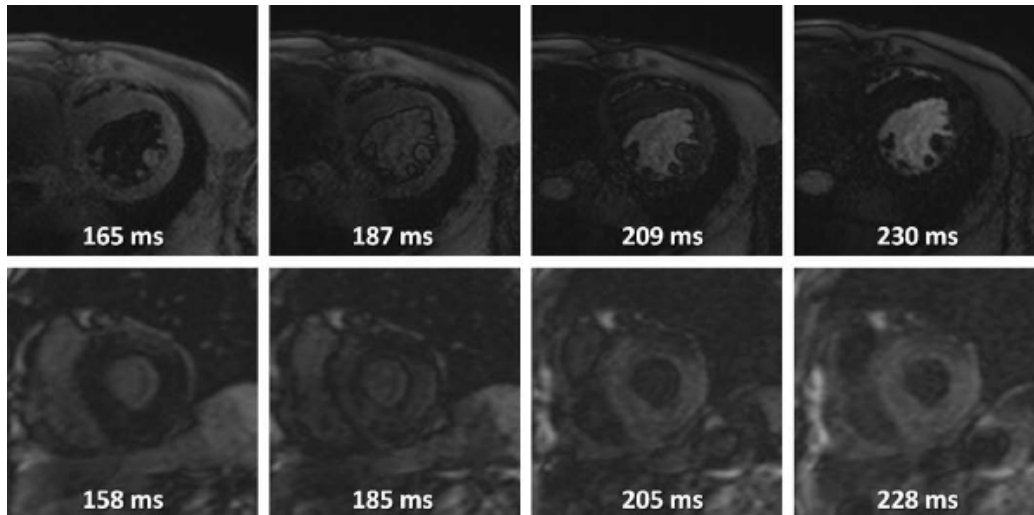
Los mapas T1 constituyen una técnica que permite una cuantificación absoluta de los valores T1 del miocardio y permiten la evaluación del incremento del espacio extracelular, superando la limitación del realce tardío ante el depósito difuso de amiloide<sup>(80)</sup>. Sin embargo, hasta 2010 los mapas T1 sólo se habían empleado para valorar el tiempo de relajación T1. Además, el realce tardío está limitado por su incapacidad para detectar fibrosis difusa puesto que el miocardio “normal” con fibrosis difusa está anulado para potenciar el realce y por tanto, se pierde la información sobre el espacio intersticial<sup>(86)</sup>.

Maceira et al. también reportaron que el Gd presenta un comportamiento específico en presencia de amiloide. El lavado de Gd del miocardio y la sangre es más rápido de lo normal, probablemente por la captación de Gd por los depósitos de amiloide en miocardio, originando valores cortos de T1 subendocárdicos y su desaparición rápida de la sangre, dando lugar a la diferencia entre la señal T1 en miocardio y la sangre<sup>(1)</sup> (*Ilustración 24*).

En el estudio de Maceira et al. la combinación de la alteración de la cinética de gadolinio, los valores de T1 en miocardio y el patrón subendocárdico global de realce tardío proporcionaron una alta precisión para el diagnóstico de AC (87%-97%)<sup>(79)</sup>. Estudios posteriores confirmaron la alta sensibilidad y especificidad de la RMC frente a la BEM (90%)<sup>(55,83)</sup>.

*Ilustración 24. Alteración de la cinética de Gd en RMC de paciente con Amiloidosis TTR.*

*Frames seleccionados de secuencias de inversion Look-locker (T1 scout): Secuencia superior en paciente con cardiopatía hipertensiva – La anulación de la sangre se consigue antes que la del miocardio. Secuencia inferior en paciente con Amiloidosis Senil – La anulación del miocardio se consigue antes de que se anule la sangre.*



*Fuente: Dzung JN, Anderson LJ, Whelan CJ, Hawkins PN. Cardiac transthyretin amyloidosis. Heart. 2012;98:1546-54<sup>(6)</sup>.*

En 2010, Flett et al.<sup>(86)</sup> publicaron la primera validación en humanos de la medida del volumen de distribución extracelular (VEC) para la medición de fibrosis difusa en una cohorte de pacientes con EAo, MCH y controles.

VEC es un ratio célula-volumen extracelular que constituye una propiedad normal de los tejidos y que puede cambiar en la enfermedad por hipertrofia celular, hiperplasia, pérdida o aumento del espacio extracelular<sup>(87)</sup>. El aumento del espacio extracelular normalmente consiste en incremento de agua, generalmente asociada a aumento de colágeno en fibrosis difusa o focal en el depósito patológico como el amiloide<sup>(87)</sup>. La diferencia de medidas en R1 ( $=1/T1$ ) pre y post contraste permite la cuantificación de VEC.

Aunque existen dos métodos más para calcular VEC, Flett et al. publicaron el empleo de una aproximación de equilibrio de contraste con una infusión continua de Gd (en lugar del bolo aislado para la obtención de las imágenes de realce tardío y eliminando por tanto los efectos de la cinética de contraste), para calcular VEC junto con el hematocrito como medida del volumen de distribución de contraste plasmático y la adquisición de secuencias de RMC antes y después del equilibrio de contraste para medir el cambio de señal (medida T1 corregida por frecuencia cardíaca). VEC se calculó según la siguiente fórmula<sup>(86)</sup> (Ilustración 25):

Ilustración 25. Fórmula para cálculo de volumen de distribución extracelular (VEC).

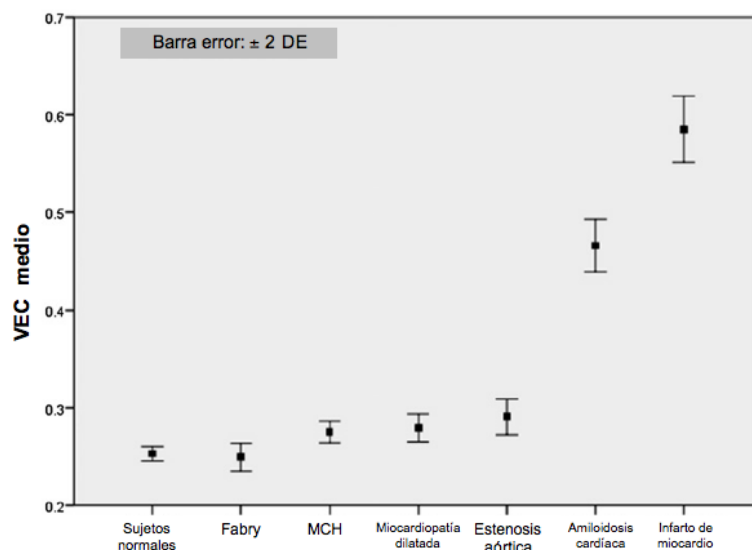
$$Vd_{(m)} = (1 - \text{hematocrit}) \times \frac{(1/T1)_{\text{myo.post}} - (1/T1)_{\text{myo.pre}}}{(1/T1)_{\text{blood.post}} - (1/T1)_{\text{blood.pre}}}$$

Fuente: Flett AS, Hayward MP, Ashworth MT, Hansen MS, Taylor AM, Elliott PM, McGregor C, Moon JC. Equilibrium contrast cardiovascular magnetic resonance for the measurement of diffuse myocardial fibrosis: preliminary validation in humans. *Circulation*. 2010;122:138-44<sup>(86)</sup>.

Esta medida de volumen de distribución miocárdico refleja la cantidad de fibrosis dado que el colágeno está rodeado de moléculas de agua y que el Gd ocupa el espacio extracelular y una de sus potenciales aplicaciones son las enfermedades con aumento del espacio intersticial, como la amiloidosis.

Sado et al.<sup>(87)</sup> encontraron posteriormente valores de VEC más altos en amiloidosis AL respecto a otras miocardiopatías con excepción de zonas de infarto, en las que los valores fueron los más altos (Ilustración 26). La distribución de VEC no mostró solapamiento con sujetos normales (a pesar del aumento constatado de VEC con la edad), lo que sugirió su potencial utilidad diagnóstica como test cuantitativo.

Ilustración 26. Volumen extracelular (VEC) en sujetos sanos y enfermos: Comparación entre grupos. Datos presentados como media  $\pm$  2DE.



Adaptada de: Sado DM, Flett AS, Banyersad SM, White SK, Maestrini V, Quarta G, Lachmann RH, Murphy E, Mehta A, Hughes DA, McKenna WJ, Taylor AM, Hausenloy DJ, Hawkins PN, Elliott PM, Moon JC. Cardiovascular magnetic resonance measurement of myocardial extracellular volume in health and disease. *Heart*. 2012;98:1436-41<sup>(87)</sup>.

Mediciones repetidas de R1 tras la inyección de contraste pueden mejorar la precisión de la medida de VEC. El aumento de VEC se observa incluso en segmentos sin realce tardío aparente, pudiendo aumentar el valor diagnóstico<sup>(45,80)</sup>.

En una cohorte específica de pacientes con AL, se constató que VEC era significativamente más alto que en controles y se correlacionaba con criterios de estratificación cardíaca. Además, se correlacionó con parámetros ecocardiográficos y por RMC clásicos, así como con el NTproBNP y los niveles de troponina, sugiriendo que VEC puede representar un marcador del umbral de depósito cardíaco de amiloide<sup>(45,88)</sup>.

Sin embargo, pocos datos existen en la literatura sobre VEC en ATTR de forma exclusiva. Estudios preliminares han constatado niveles de VEC en ATTR mucho más elevados que en AL y sin embargo, el T1 nativo se ha demostrado menor. Esto puede representar la diferente respuesta de los miocitos a dos mecanismos fisiopatológicos distintos<sup>(89)</sup>. No se objetivó elevación de VEC en portadores de mutación pero sí en pacientes con grado 1 en gammagrafía con DPD.

Dados los beneficios de ésta técnica y que los valores de T1 nativos se están demostrando igual de informativos en cuanto a diagnóstico y pronóstico, actualmente se considera si el futuro de las técnicas cuantitativas de RMC debe dirigirse hacia una aproximación unificada del mapeo T1 que permita su aplicación en la práctica clínica.

Sin embargo, aunque todas estas características son sensibles para el diagnóstico de amiloidosis, ninguna es específica, pudiendo aparecer en otras enfermedades infiltrativas o inflamatorias<sup>(83)</sup> y no permiten, hasta el momento actual, obviar el diagnóstico definitivo por histología.

El papel de la RMC en fases precoces aún no ha sido validado por completo. Sin embargo, algunos estudios han identificado la afectación cardíaca mediante realce tardío hasta en el 47% de pacientes con grosores normales en ecocardiograma<sup>(45,82)</sup>. En estos, el patrón más frecuente suele ser el parcheado o la anulación subóptima del miocardio. Más aún, los valores aumentados de T1 precontraste antes de la aparición de realce tardío han apuntado a poder suplir a éste como marcador más precoz de afectación cardíaca así como VEC<sup>(84,85,88)</sup>.

Los hallazgos de RMC podrían además tener un papel en el pronóstico dada su relación con la clase funcional (NYHA), el grosor miocárdico, la FEVI y los niveles de NTproBNP y troponina<sup>(82)</sup>. En la cohorte de pacientes en la que primero se describió el predominio del patrón subendocárdico, el realce tardío aislado no se correlacionó con la

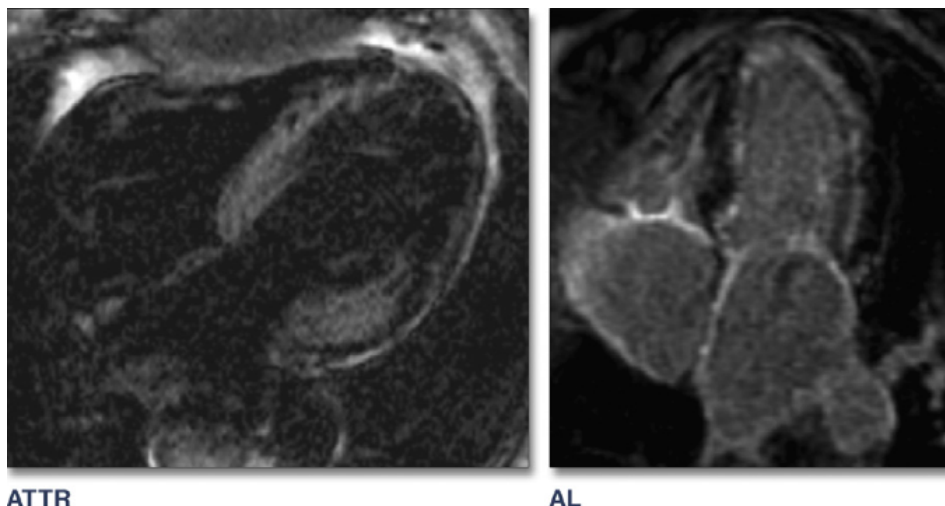
supervivencia. Sin embargo, la cinética de Gd sí se asoció a diferencias significativas en supervivencia, especialmente el gradiente T1 intra-miocárdico, reflejando una capacidad de discriminación superior en el umbral de amiloide<sup>(90)</sup>. Otros estudios sí han relacionado la presencia de realce tardío como un importante predictor de mortalidad<sup>(91)</sup>. Recientemente se ha reportado correlación entre VEC y T1 nativo como predictores significativos de mortalidad en pacientes con amiloidosis AL<sup>(92)</sup>. Dado su pequeño tamaño, se necesitan más estudios y su validación en este campo<sup>(1,6)</sup>.

La RMC puede servir además para guiar la toma de muestras de la BEM de forma análoga a las aproximaciones llevadas a cabo en la sospecha de miocarditis aguda por la excelente correlación entre imagen y hallazgos histológicos.

En cuanto a la discriminación de amiloidosis AL de ATTR, se consideraba que ambas presentaban patrones solapados y que no era posible su diferenciación por RMC.

Sin embargo, un estudio reciente comparó dos cohortes de pacientes, 46 con AL y 51 con Amiloidosis Senil. Todos los pacientes con Amiloidosis Senil presentaron realce tardío más extenso que los pacientes con AL y en el 90% de los casos fue transmural frente al 37% en AL. Además, se observó la presencia de realce tardío en ventrículo derecho en todas las Seniles y sólo en el 72% de AL (*Ilustración 27*). Más allá, este grupo inglés ha creado un sistema de escala basado en el realce tardío (*Quero Amyloid Late Enhancement*) que permite diferenciar AL de ATTR. Han aportado que la adicción de un modelo de regresión logística con la edad y el grosor miocárdico, presenta una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de ATTR (87 y 96% respectivamente)<sup>(93)</sup>.

*Ilustración 27. Ejemplos de patrones de realce tardío en pacientes con amiloidosis hereditaria por transtiretina y AL. ATTR: Eje largo mostrando gradiente base-ápex de realce tardío; AL: Eje largo evidenciando realce subendocárdico global.*





*Fuente: Dzung JN, Valencia O, Pinney JH, Gibbs SD, Rowczenio D, Gilbertson JA, Lachmann HJ, Wechalekar A, Gillmore JD, Whelan CJ, Hawkins PN, Anderson LJ. CMR-based differentiation of AL and ATTR cardiac amyloidosis. JACC Cardiovasc Imaging. 2014;7:133-42<sup>(93)</sup>.*

Por tanto, ante todo lo anterior, la RMC puede ser la técnica deseada para monitorizar el umbral de amiloidosis ya que no existe un método validado de medida y para evaluar la respuesta a nuevos fármacos. Incluso puede ser útil para constatar la mejoría clínica post-tratamiento cuando no se observa reducción del engrosamiento miocárdico por ecocardiografía.

#### **1.4.4.5. GAMMAGRAFÍA NUCLEAR EN AMILOIDOSIS CARDÍACA POR TRANSTIRETINA.**

La aplicación de técnicas de medicina nuclear en cardiología es un terreno en expansión en los últimos años.

Se pueden emplear tanto tomografía computerizada (TC) por emisión de fotón único (SPECT) como radiotrazadores basados en tomografía por emisión de positrones (PET)<sup>(45)</sup>.

Tres tipos de trazadores nucleares han sido empleados en el estudio de la amiloidosis cardíaca hasta el momento:

1. *Moléculas dirigidas contra los depósitos de amiloide.*
2. *Compuestos con avidez ósea.*
3. *Agentes emisores de positrones.*

##### **1. Moléculas dirigidas contra los depósitos de amiloide.**

- La gammagrafía con componente P de amiloide sérico (SAP) permite visualizar los depósitos viscerales de amiloide de cualquier tipo a nivel hepático, renal, esplénico, adrenal y óseo. Esta técnica, en uso desde hace más de 20 años<sup>(26)</sup>, permite además de valorar la extensión de los depósitos de amiloide, evaluar la respuesta al tratamiento, pero no está disponible fuera del centro nacional de referencia de amiloidosis de Reino Unido<sup>(32,94)</sup>. A pesar de sus ventajas, no permite visualizar los depósitos a nivel cardíaco debido a la movilidad del corazón<sup>(6)</sup> y al lento paso del trazador a través de los capilares endoteliales miocárdicos<sup>(32,45,94)</sup>.

- I123-metaiodobenzylguanidina (MIBG) es un trazador de la captación de neurotransmisores por neuronas simpáticas. No se une de forma directa a los depósitos de amiloide pero proporciona información funcional indirecta objetivando disfunción simpática cardíaca asociada con el depósito<sup>(37,51,55)</sup>, que puede ser un rasgo de afectación cardíaca precoz sobre todo en FAP<sup>(45)</sup>.
- Aprotinina es un inhibidor de una proteasa sérica, que constituye parte de la matriz de amiloide. El empleo de <sup>99m</sup>Tc-aprotinina ha demostrado una baja sensibilidad y bajas proporciones de señal cardíaca-fondo por lo que su interpretación es compleja. Se dispone de escasa experiencia y no permite realizar el seguimiento de la cantidad de depósito miocárdico<sup>(4,95)</sup>.

## 2. *Compuestos con avidéz ósea.*

La observación de captación cardíaca mediante el uso de varios trazadores de difosfonato de hueso en numerosos casos durante los años 70 y 80 planteó la sospecha de amiloidosis cardíaca, que fue confirmada por histología. Varios grupos desde entonces empezaron a investigar la utilidad de diferentes trazadores como <sup>99m</sup>Tc-3,3-difosforo-1,2-ácido propanodicarboxílico (DPD), <sup>99m</sup>Tc-metileno-difosfonato (MDP) y <sup>99m</sup>Tc-pirofosfato (PYP)<sup>(15,96)</sup>.

El <sup>99m</sup>Tc-fosfato se une a la TTR en el miocardio y generalmente no a las cadenas ligeras. No se conoce el mecanismo exacto de la unión, pero parece que está en relación con el alto contenido en calcio de los depósitos de amiloide<sup>(6,5,97)</sup>. Diferentes estudios con los distintos trazadores han ofrecido resultados heterogéneos y con sensibilidades y especificidades sujetas a debate<sup>(4)</sup>. Se han publicado también falsos positivos y bajas captaciones en cardiopatía hipertensiva, sarcoidosis y miocardiopatía dilatada<sup>(55)</sup>.

De todos los trazadores, <sup>99m</sup>Tc-DPD, poco utilizado previamente para gammagrafías óseas, ha ganado protagonismo y ha sido con diferencia el más estudiado.

La gammagrafía con <sup>99m</sup>Tc-DPD es una técnica económica y ampliamente extendida en Europa, aunque no está disponible en Estados Unidos<sup>(45,96)</sup>. Hasta la fecha ha demostrado su valor en diferentes escenarios clínicos:

- En primer lugar, demostró su alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico diferencial entre amiloidosis ATTR y AL. Un primer estudio del grupo de Bolonia reportó captación en 15 pacientes con ATTR y ausencia de captación en 10 con AL<sup>(95)</sup>, con una sensibilidad y especificidad por tanto, del 100%. A raíz de este estudio, se

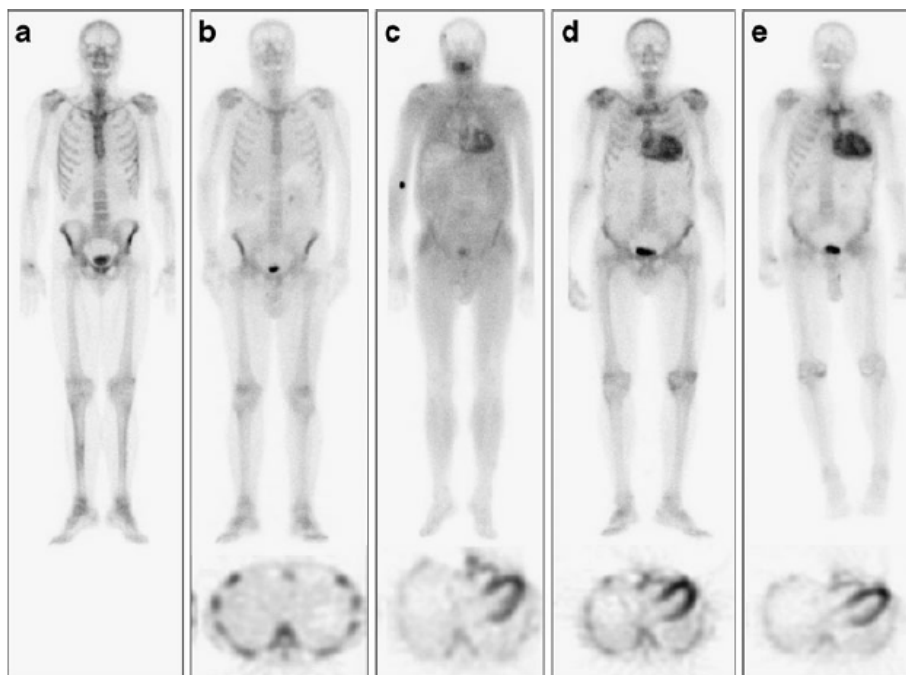
concluyó que la ausencia de captación era prácticamente patognomónica de AL<sup>(97)</sup>. De forma adicional, el estudio demostró que DPD es superior a MDP, que falló en demostrar la captación en 11 pacientes.

Un segundo estudio, también del grupo de Bolonia, con mayor número de pacientes (79) y con un análisis según el *ratio* captación cardíaca-global, encontró leve captación en un tercio (15 pacientes) con AL avanzada por lo que disminuía la sensibilidad del trazador DPD para ATTR<sup>(98)</sup> (*Ilustración 28*).

Estudios posteriores han confirmado su precisión diagnóstica<sup>(4,96,97,99)</sup> y de forma análoga, <sup>99m</sup>Tc-PYP ha demostrado también ser capaz de distinguir amiloidosis AL de ATTR<sup>(96)</sup>.

*Ilustración 28. Ejemplos del espectro de captación en Gammagrafía <sup>99m</sup>Tc-DPD.*

**A)** Sujeto control sin captación. **B)** Paciente con amiloidosis AL y evidencia ecocardiográfica de afectación cardíaca, sin captación detectable del trazador. Una leve captación es visible sólo a nivel de tejidos blandos. **C)** Paciente con amiloidosis AL y evidencia ecocardiográfica de afectación con captación miocárdica moderada y leve en tejidos blandos. **D y E)** Dos pacientes con amiloidosis TTR (Hereditaria y Senil, respectivamente), con documentación ecocardiográfica de amiloidosis cardíaca. Ambos muestran captación intensa y atenuación ósea de la captación.



*Fuente: Rapezzi C, Quarta CC, Guidalotti PL, Longhi S, Pettinato C, Leone O, Ferlini A, Salvi F, Gallo P, Gagliardi C, Branzi A. Usefulness and limitations of <sup>99m</sup>Tc-3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylic acid scintigraphy in the aetiological diagnosis of amyloidotic cardiomyopathy. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2011;38:470-8<sup>(98)</sup>.*

Por tanto, <sup>99m</sup>Tc-DPD ayuda en el diagnóstico diferencial entre ATTR y AL en los casos

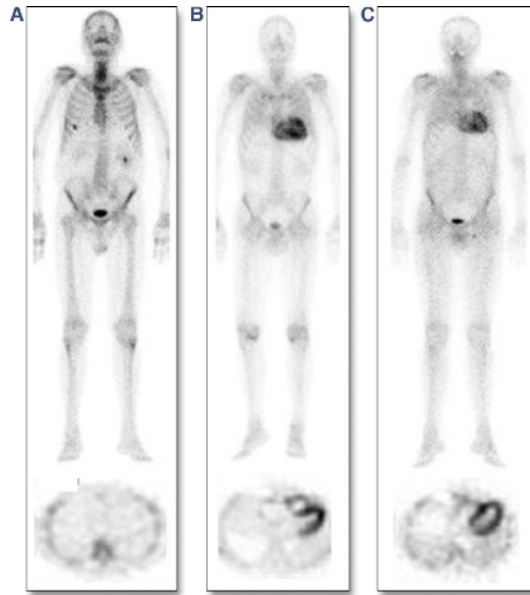
de ausencia de captación o captación intensa. Tras los diferentes estudios parece que los grados intermedios tienen un significado incierto. En éstos, el SPECT-TC-DPD puede ayudar a distinguir AL de TTR.

Una hipótesis para explicar la diferencia de captación entre AL y amiloidosis por transtiretina se basa en posibles diferencias en el contenido de calcio entre los distintos subtipos de amiloidosis, lo que proporcionaría diferentes grados de unión. Otra teoría apuntaría a la diferente duración de los depósitos en ambos subtipos, favoreciendo la formación de enlaces entre el calcio y las fibras en depósitos de mayor duración<sup>(34,96)</sup>. Estudios *in vitro* están en marcha para determinar la naturaleza de las interacciones entre el trazador y las fibras de amiloide<sup>(99)</sup>.

- Además, la gammagrafía con <sup>99m</sup>Tc-DPD ha demostrado también su capacidad en el diagnóstico diferencial con otros tipos de miocardiopatías que cursan con hipertrofia ventricular, como la miocardiopatía hipertrófica, como valor añadido a la ecocardiografía y especialmente en la identificación no invasiva de Amiloidosis Senil<sup>(100)</sup> (Ilustración 29).

*Ilustración 29. Ejemplos representativos del espectro de la captación de la gammagrafía <sup>99m</sup>Tc-DPD.*

**A)** Paciente con MCH sarcomérica sin captación. **B y C)** Dos pacientes con amiloidosis TTR (Senil y Hereditaria, respectivamente) con captación intensa y atenuación ósea.

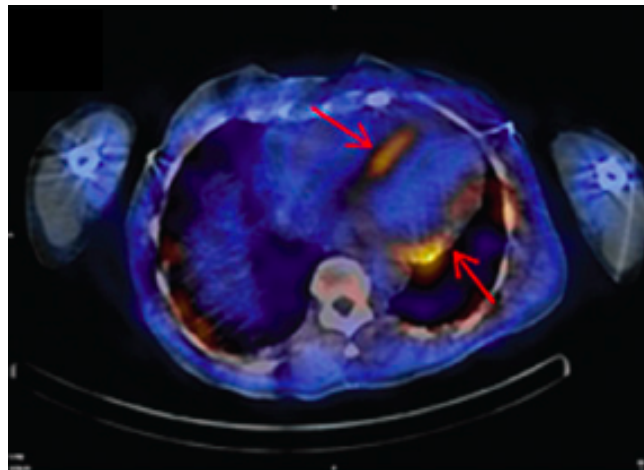


Fuente: Quarta CC, Guidalotti PL, Longhi S, Pettinato C, Leone O, Ferlini A, Biagini E, Grigioni F, Bacchi-Reggiani ML, Lorenzini M, Milandri A, Branzi A, Rapezzi C. Defining the diagnosis in echocardiographically suspected senile systemic amyloidosis. JACC Cardiovasc Imaging. 2012;5:755-8<sup>(100)</sup>.

- También se ha demostrado que la captación se correlaciona con parámetros ecocardiográficos asociados a supervivencia y constituye un factor pronóstico para eventos cardíacos clínicos<sup>(97,101)</sup>.
- Por último, son numerosos los ejemplos en la literatura que evidencian que DPD permite visualizar la afectación cardíaca antes del inicio de los síntomas<sup>(99,101,102)</sup>. Depósitos cardíacos de TTR se pueden identificar en pacientes asintomáticos con captación en gammagrafía con DPD en estadios iniciales cuando la ecografía, los biomarcadores e incluso la RMC son normales. Dada su sensibilidad, esta técnica puede ser considerada para el establecer el diagnóstico y como herramienta de *screening*<sup>(6,45)</sup>.

La intensa captación cardíaca va generalmente acompañada de una reducción aparente de la captación ósea. Técnicas de imagen con SPECT han indicado recientemente que esta reducción es debida a enmascaramiento por una extensa captación por tejidos blandos, especialmente a nivel muscular<sup>(99)</sup> (*Ilustración 30*). Este nuevo hallazgo podría explicar la astenia y letargia de algunos pacientes pero su papel debe ser evaluado en próximos estudios.

*Ilustración 30. TC-SPECT con captación miocárdica.*



*Fuente: Hutt DF, Quigley AM, Page J, Hall ML, Burniston M, Gopaul D, Lane T, Whelan CJ, Lachmann HJ, Gillmore JD, Hawkins PN, Wechalekar AD. Utility and limitations of 3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylic acid scintigraphy in systemic amyloidosis. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 2014;15:1289-98<sup>(99)</sup>.*

En cuanto al análisis de los resultados de la gammagrafía, clásicamente se ha utilizado un *score* visual junto con un análisis semicuantitativo de la captación cardíaca frente a la captación global<sup>(94)</sup>. Este método permite su aplicación de forma

generalizada en el contexto de la práctica clínica habitual. Su debilidad es la subjetividad inherente<sup>(69)</sup>.

En los últimos años se promulga la realización de un análisis cuantitativo mediante el empleo de regiones de interés (ROIs)<sup>(96)</sup>. No se dispone de un punto de corte para el diagnóstico de afectación cardíaca a pesar de que distintos estudios han comparado los valores en ATTR frente a AL<sup>(96,98)</sup>. Un estudio reciente ha podido definir que un *hazard ratio* (HR) del 4,8% indica afectación cardíaca con una sensibilidad del 80% y una especificidad del 90%<sup>(97)</sup>.

Sin embargo, el análisis cualitativo que diferencia el depósito focal (típico de infarto de miocardio) y el difuso, añade valor diagnóstico a las aproximaciones semi y cuantitativas<sup>(96)</sup> puesto que la mera existencia de captación no tiene valor diagnóstico, sino la intensidad y su distribución en la pared de ambos ventrículos<sup>(4)</sup>. Por ello, ambos análisis parecen complementarios.

En cuanto a otras limitaciones de la técnica, recientemente, se ha publicado el primer caso de un paciente con captación significativa en el que se confirmó posteriormente el diagnóstico tanto histológico como genético de amiloidosis por Apo A-I. A diferencia de los pacientes con ATTR, no se observó la atenuación ósea típica de ATTR. El papel de esta observación así como las implicaciones de este hallazgo deben ser objeto de investigación en series con mayor número de pacientes<sup>(34)</sup>.

Además, a pesar de la sospecha de un aumento de la captación con la edad, esto no ha podido ser comprobado en un estudio reciente<sup>(97)</sup>.

### **3. Agentes emisores de positrones.**

El uso de agentes emisores de positrones se basa en la estructura de Tioflavina T, una tinción de benzotiazolona que emite fluorescencia cuando se une a fibras de amiloide ricas en cadenas  $\beta$ . Ha sido aprobado como trazador de amiloide  $\beta$  en la enfermedad de Alzheimer<sup>(55)</sup>.

El uso de radiotrazadores basados en tomografía por emisión de positrones como C-11 Pittsburgh B o F-18 florbetapir<sup>(45)</sup> está en estudio en la actualidad. Estos agentes ofrecen la posibilidad de cuantificar el probable umbral de amiloidosis y la identificación de la afectación cardíaca antes de la aparición de alteraciones estructurales<sup>(45)</sup>. Recientemente, se ha evaluado la utilidad de 18F-florbetapir en

amiloidosis cardíaca, con resultados prometedores tanto en AL como en ATTR<sup>(103)</sup>.

#### 1.4.5. PRONÓSTICO DE LA AMILOIDOSIS CARDÍACA POR TRANSTIRETINA.

El pronóstico de la amiloidosis por TTR es significativamente mejor que el del tipo AL con afectación cardíaca.

A pesar de que se conoce poco sobre su historia natural y que la mayoría de datos sobre pronóstico derivan de estudios en amiloidosis AL, los escasos datos sobre pronóstico en miocardiopatía por TTR hereditaria han estimado una supervivencia del 98 al 100% a 3 años frente al 80% en Amiloidosis Senil<sup>(50,51)</sup>.

El pronóstico de la amiloidosis AL es de entre 6 y 12 meses desde el diagnóstico<sup>(11,32)</sup> frente a los 3-5 años en amiloidosis por TTR, a pesar de la mayor afectación miocárdica en la forma Senil<sup>(50)</sup>. Otros estudios sugieren una mediana de supervivencia de 7 años en la forma Senil<sup>(43)</sup>.

El motivo para esta diferencia en supervivencia no está clara. Una de las teorías propuestas es que las fibras de amiloide derivadas de cadenas ligeras serían más tóxicas, provocando disfunción o pérdida precoz de los cardiomiocitos<sup>(27)</sup>, junto con una alta tasa de depósito en amiloidosis AL, que podría justificar el desarrollo de IC en ausencia de infiltración tan marcada<sup>(6,58)</sup>.

El estudio prospectivo, multicéntrico y observacional *TRACS (Amiloidosis cardíaca por transtiretina)* que comparó ATTR por mutación en V122I y Amiloidosis Senil, encontró una supervivencia tras el diagnóstico de 26 meses versus 46 respectivamente<sup>(55)</sup>, aunque el estadio de la enfermedad de los pacientes en el momento de ser remitidos para valoración a un centro de referencia puede suponer un sesgo en este estudio. En otro estudio observacional, la mediana de supervivencia de pacientes con la forma hereditaria fue de 25,6 meses frente a 43 en el grupo de Seniles<sup>(26)</sup>.

En cuanto a las distintas mutaciones, variantes no Val30Met suelen tener peor pronóstico incluso después de trasplante hepático<sup>(51)</sup> aunque concretamente el curso clínico de T60A parece más lento con una mediana de supervivencia de 6,6 años desde el inicio de los síntomas y de 3,4 desde el diagnóstico<sup>(55)</sup>.

La progresión neurológica y la IC son las principales causas de mortalidad en ATTR, aunque puede producirse muerte súbita debida a disociación electromecánica, BAV completo o fibrilación ventricular (FV)<sup>(51,104)</sup>.

Existen pocos datos sobre el grado de progresión cardíaca en amiloidosis por TTR. El estudio *TRACS* observó una disminución de la FEVI y de la distancia recorrida en el test de 6 minutos que coincidía con un incremento de NTproBNP en ambos subtipos de cardiopatía a los 18 meses<sup>(55)</sup>.

En cuanto a factores pronósticos, no existen datos uniformes en ATTR. Un estudio reciente ha evaluado los indicadores no invasivos de severidad y los predictores de supervivencia de ATTR<sup>(97)</sup>, encontrando que la captación en gammagrafía DPD se relaciona con parámetros establecidos sobre la severidad cardíaca. Además, a raíz de este estudio, la troponina T ha emergido como el único índice independiente para la estratificación de riesgo tras ser ajustado por NTproBNP e hipertrofia de ventrículo izquierdo. Por el contrario, otro estudio reportó la edad y el patrón de llenado transmitral como los predictores independientes de mortalidad cardiovascular, estancia hospitalaria por IC, bloqueo AV completo, fibrilación auricular/flutter o accidente cerebrovascular<sup>(101)</sup>.

En análisis multivariantes, el grosor miocárdico, la edad y la severidad de la insuficiencia cardíaca se asociaron con una menor supervivencia frente a fracción de eyección de ventrículo izquierdo y patrón diastólico, que presentaron una débil asociación<sup>(50)</sup>.

#### **1.4.6. TRATAMIENTO EN AMILOIDOSIS CARDÍACA POR TRANSTIRETINA.**

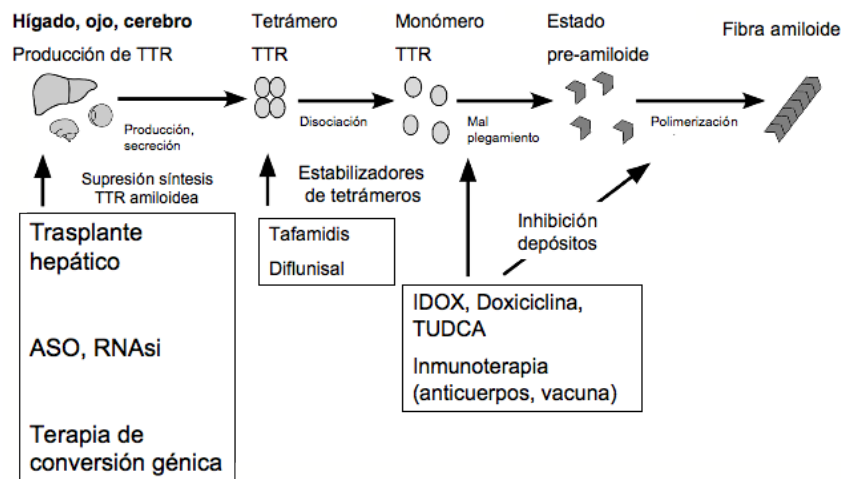
Clásicamente, el tratamiento de la amiloidosis cardíaca consta de dos vertientes. Por un lado, el manejo de las complicaciones cardíacas o tratamiento de soporte, independiente del tipo de amiloidosis y por otro, el tratamiento de base del subtipo (*Ilustración 31*).

A diferencia de otros tipos de miocardiopatías, existen pocos datos basados en estudios en el campo de la amiloidosis por TTR que permitan tomar decisiones en la práctica clínica habitual<sup>(55)</sup>.

En el caso concreto de la Amiloidosis hereditaria por TTR, el tratamiento es complejo y requiere de un manejo multidisciplinar<sup>(63)</sup>.



Ilustración 31. Terapias en Amiloidosis por transtiretina.



Adaptada de: Ueda M, Ando Y. Recent advances in transthyretin amyloidosis therapy. *Transl Neurodegener.* 2014;3:19<sup>(57)</sup>.

#### 1.4.6.1. TRATAMIENTO DE SOPORTE.

##### *Manejo de la insuficiencia cardíaca.*

Debido a la fisiología restrictiva, en AC es de vital importancia mantener unas adecuadas presiones de llenado. Por ello, dado que los diuréticos son el pilar fundamental del tratamiento<sup>(54)</sup>, su empleo tiene que ser cuidadoso, al igual que las medidas higiénico-dietéticas como la restricción de líquidos y sal. Los diuréticos pueden reducir la precarga y las presiones de llenado en presencia de fisiología restrictiva, derivando en hipotensión y reducción del gasto cardíaco.

Existe escasa evidencia en cuanto al uso de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) o antagonistas de los receptores de angiotensina (ARA2). Todos ellos pueden ser mal tolerados y empeorarían la hipotensión postural o la función renal aunque de forma más relevante en amiloidosis AL. Los pacientes con Amiloidosis Senil podrían tolerar con más frecuencia IECAs o ARA2<sup>(1,11)</sup>.

La midodrina, un agonista selectivo y periférico de receptores  $\alpha$  adrenérgicos, se puede emplear en pacientes con hipotensión sintomática. Es el único fármaco aprobado por la Agencia de Alimentos y Medicamentos americana (FDA) para el tratamiento de la hipotensión ortostática<sup>(51)</sup>. Puede ser útil en pacientes que requieren altas dosis de diuréticos de asa y presentan un gran componente disautonómico<sup>(105)</sup>, aunque se puede llegar a precisar el empleo de mineralocorticoides<sup>(12)</sup>.

La taquicardia es un mecanismo compensatorio clave para mantener el gasto cardíaco

en presencia de disfunción diastólica y reducción del *stroke volume*<sup>(55)</sup>. Por ello, dada la fisiología restrictiva de la AC, los betabloqueantes se suelen tolerar mal. No existen estudios randomizados sobre el uso de este grupo de fármacos en AC pero una reducción en la frecuencia cardíaca puede provocar una disminución crítica del gasto cardíaco, sin proporcionar beneficios en términos de remodelado ventricular<sup>(6,26,51)</sup>. Por tanto, en el caso de emplearlos se debe tener en cuenta no exceder las dosis en las que los efectos cronotrópicos e inotrópicos negativos superan a los beneficios<sup>(55)</sup>.

Tanto la digoxina<sup>(106)</sup> como los antagonistas del calcio<sup>(107,108)</sup> pueden ser concentrados de forma selectiva en los depósitos de amiloide por lo que debido a su potencial toxicidad, están contraindicados en AC, especialmente los antagonistas del calcio ya que se ha reportado un rápido empeoramiento tanto con dihidropiridínicos como con no dihidropiridínicos por su efecto inotrópico negativo<sup>(51)</sup>.

El mantenimiento del ritmo sinusal es importante puesto que el desarrollo de FA empeora la disfunción diastólica y una frecuencia cardíaca elevada puede comprometer la función sistólica. Sin embargo, la reversión a ritmo sinusal constituye un gran reto en AC y muchas veces no es exitoso a largo plazo. La amiodarona es presumiblemente segura en AC por TTR para el tratamiento de arritmias supraventriculares<sup>(1,6,55)</sup>.

En cuanto a la anticoagulación es de vital importancia en pacientes con FA por el alto riesgo de accidente cerebrovascular (ACV) además de la menor tasa de eventos hemorrágicos en comparación con los pacientes con amiloidosis AL<sup>(51)</sup>. Se ha propuesto incluso plantear anticoagulación a largo plazo en pacientes en los que no se ha objetivado FA<sup>(54)</sup> dado que la incidencia de trombos auriculares es alta. En un estudio de autopsias con 116 pacientes, se documentó un trombo auricular en 23 de ellos y entre 2 y 5 trombos en otros 15<sup>(26)</sup>. Algunos estudios han sugerido el empleo del ecocardiograma transesofágico para identificar a los pacientes con disfunción auricular a pesar de mantener el ritmo sinusal, desvelando la presencia de eco contraste espontáneo en la orejuela mediante bajas velocidades por Doppler<sup>(1,55)</sup>.

### *Dispositivos.*

Tanto los marcapasos (MP) como los desfibriladores automáticos implantables (DAI) pueden no prevenir la muerte súbita en pacientes con amiloidosis cardíaca puesto que se considera que con frecuencia la muerte se debe a disociación electromecánica<sup>(1,104)</sup>.

En ausencia de evidencia, las indicaciones del implante de marcapasos se mantienen

según las guías actuales<sup>(109)</sup>. Sin embargo, en centros especializados, la presencia de bradiarritmias o síntomas como presíncope en presencia de trastornos de conducción conducen al implante de marcapasos antes de lo que se haría en pacientes sin amiloidosis cardíaca<sup>(1,51,55)</sup>.

La utilidad de los desfibriladores en pacientes con amiloidosis no está bien establecida y es controvertida<sup>(6,104)</sup>. Un estudio reciente<sup>(26)</sup> incluyó 53 pacientes, 33 con amiloidosis AL, 10 con Senil y 9 con la forma TTR hereditaria. El implante se realizó en el 77% de los casos en prevención primaria y en el 23% en prevención secundaria. La tasa de descargas apropiadas en el primer año fue del 32% y sólo se produjeron en pacientes con amiloidosis AL. Sin embargo, esto no se tradujo en mejoría de la supervivencia global del subgrupo, por tanto, los DAIs no han demostrado efectos en la supervivencia en AC<sup>(26,51)</sup>. La selección de candidatos favorables no se conoce<sup>(26)</sup> y debería reservarse para pacientes en prevención secundaria<sup>(55)</sup>. En algunos centros se emplea amiodarona como prevención de arritmias y muerte súbita en pacientes con AC aunque sin estudios que hayan demostrado su eficacia<sup>(26,51)</sup>.

La estimulación biventricular parece tener un papel muy escaso en AC aunque sería la forma ideal de estimulación para evitar descompensaciones del rígido ventrículo izquierdo como resultado de la asincronía derivada de la estimulación desde ventrículo derecho<sup>(11,110)</sup> sobre un ventrículo pequeño y con una FEVI reducida<sup>(11)</sup>.

Aunque el implante de una asistencia ventricular izquierda es técnicamente posible en pacientes con AC, queda por determinar si esta aproximación tiene un papel beneficioso<sup>(26)</sup>. Se han empleado asistencias ventriculares en un escaso número de pacientes con cardiopatía terminal tanto como puente a trasplante como de destino. Las complicaciones gastrointestinales fueron frecuentes y los resultados globales fueron decepcionantes por alta mortalidad, abogando por una cuidadosa selección de los pacientes candidatos<sup>(11,111)</sup>.

### *Trasplante cardíaco.*

El trasplante cardíaco ha jugado clásicamente un papel minoritario por la naturaleza multiorgánica de la mayoría de los tipos de amiloidosis y por la edad avanzada de los pacientes con Amiloidosis Senil.

El trasplante combinado, cardíaco y hepático, se ha llevado a cabo hasta el momento en una docena de casos de pacientes con la forma familiar a nivel mundial<sup>(112-114)</sup>.

Aunque la mayoría de pacientes con Amiloidosis Senil son muy mayores para ser candidatos a trasplante, la ausencia de afectación extracardíaca les hace ser buenos candidatos si son menores de 70 años. En un número minoritario de pacientes con inicio precoz, el trasplante ha demostrado ser exitoso<sup>(32,115)</sup>. La literatura recoge el caso del trasplante cardíaco en el paciente con mayor edad, 77 años, con una supervivencia de hasta 4 años y ausencia de evidencia de recurrencia de depósito amiloide<sup>(55)</sup>.

#### 1.4.6.2. TRATAMIENTO CAUSAL EN AMILOIDOSIS POR TRANSTIRETINA.

##### *Trasplante hepático.*

A pesar de que la producción de TTR se lleva a cabo en el hígado, dado que el depósito a ese nivel es mínimo o inexistente, poco efecto se produce sobre la función hepática<sup>(11)</sup>.

La reducción en la producción del precursor en amiloidosis TTR hereditaria se ha basado en el trasplante hepático, concebido como una “*terapia génica quirúrgica*”. Aunque no se han realizado ensayos clínicos que evalúen su eficacia<sup>(12,58)</sup>, el trasplante suprime la síntesis de TTR mutada en un 95%<sup>(37,51,63)</sup> y consigue estabilizar e incluso mejorar en algunos casos, los síntomas neurológicos, el ortostatismo y el estado nutricional.

El primer trasplante hepático se llevó a cabo en 1990 en el Sweden Karolinska Institute<sup>(55)</sup>, en Estocolmo (Suecia). En los siguientes 20 años, centros con programa de trasplante hepático enviaron datos de 1844 trasplantes hepáticos al Registro Mundial de trasplante de FAP (<http://www.fapwtrorg>)<sup>(55)</sup>, siendo la mayoría pacientes portadores de mutación Val30Met. Según sus datos, a fecha de diciembre de 2013, se han llevado a cabo un total de 2093 trasplantes hepáticos en 20 países. Los datos actuales del registro indican una supervivencia del 74% a 10 años en pacientes con V30M frente al 44% en pacientes no V30M<sup>(37)</sup>.

Los factores asociados a buen pronóstico son: Edad inferior a 50 años; duración de la enfermedad menor a 7 años; sexo femenino (por la menor frecuencia de miocardiopatía respecto a varones); índice de masa corporal modificado o corregido por el nivel de albúmina sérica para compensar por el edema (IMCm) >600g/dL; regulación vasomotora autonómica normal; ausencia de cardiopatía y mutación

Val30Met (por la baja frecuencia de miocardiopatía asociada)<sup>(6,55)</sup>.

Por tanto, la indicación más aceptada para llevar a cabo el trasplante hepático es la de pacientes jóvenes con mutación Val30Met en estadios iniciales de la enfermedad. Para algunos expertos, debe realizarse en el primer año del inicio de los síntomas<sup>(3,33,37)</sup>.

El papel del trasplante hepático en mutaciones no Val30Met sigue siendo incierto dado que los datos publicados hasta ahora son anecdóticos<sup>(58)</sup>. De hecho, algunas mutaciones no V30M que incluyen Glu42Gly, Ala36Pro, Ser52Pro e Ile84Thr están ligadas a rápida progresión cardíaca post-trasplante<sup>(61)</sup>.

El beneficio en pacientes con afectación cardíaca está menos claro. El trasplante exclusivamente hepático es cuestionable en pacientes con afectación cardíaca única<sup>(62)</sup> y existe la opción del trasplante cardíaco y hepático combinado (simultáneo o secuencial) en casos de cardiopatía avanzada, aunque implica alto riesgo y raramente es factible<sup>(6,37)</sup>.

Las complicaciones cardiovasculares suponen el 4% de la mortalidad de los pacientes sometidos a trasplante hepático, ocurriendo la mitad de ellas en los primeros 3 meses<sup>(37,51)</sup>. De hecho, la cardiopatía puede progresar tras el trasplante hepático por el depósito de TTR nativa precipitada por las fibras preexistentes compuestas por la proteína mutada<sup>(11,63)</sup>. Los depósitos de amiloide cardíacos generalmente contienen entre un 50 y un 70% de TTR mutada frente al 75-90% de TTR nativa en muestras post-mortem de pacientes trasplantados<sup>(12)</sup>. Aunque los mecanismos por los que se produce esta progresión no son del todo bien comprendidos, esto constituye una reminiscencia de la capacidad del prion de la proteína patogénica de convertir su homólogo normal en una conformación patogénica<sup>(13)</sup> y podría además representar el ejemplo de la formación de amiloide acelerada por la presencia de fibras en los núcleos, aunque la formación *in vitro* de amiloide TTR no parece dependiente de nucleación<sup>(57)</sup>.

El trasplante no previene el desarrollo de bloqueos AV que requieran el implante de marcapasos. Según distintas series, este porcentaje varía desde el 8 al 20%. Este riesgo es independiente del género y permanece constante con el paso del tiempo<sup>(12,63)</sup>. Dada la frecuencia de muertes por causa cardíaca en pacientes con ATTR tras trasplante hepático, algunos grupos consideran adecuado el implante profiláctico de marcapasos. Existe una limitada experiencia sobre ese asunto, con resultados dispares por lo que sería conveniente disponer de un estudio prospectivo y randomizado que evalúe el impacto de la implantación profiláctica de marcapasos

sobre la supervivencia<sup>(55)</sup>.

La progresión de los depósitos tras el trasplante también se ha documentado a nivel ocular y en leptomeninges, pudiendo producirse hemorragias intracraneales<sup>(26,63)</sup>.

Dado que los pacientes con ATTR hereditaria presentan una función hepática normal, sus órganos pueden ser objeto de un trasplante *dominó*. La asunción inicial de que la amiloidosis no aparecería hasta décadas después del trasplante por la ausencia de síntomas en los pacientes con FAP antes de los 20 años llevó al inicio de este procedimiento en 1995. Desde entonces más de 950 trasplantes *dominó* se han llevado a cabo en todo el mundo<sup>(37)</sup>. Sin embargo, la aparición de depósitos de amiloide sintomáticos en receptores de trasplante *dominó* se documentó antes de lo esperado, a partir de los 8-10 años post-trasplante, simulando FAP de inicio precoz<sup>(12,51)</sup> y algunos pacientes han sido retrasplantados por este motivo<sup>(63)</sup>. A pesar de ello, para algunos autores, la escasez de órganos justifica el empleo de éstos<sup>(37)</sup>.

#### 1.4.6.3. NUEVOS TRATAMIENTOS.

Una mejora en la comprensión de la patogénesis de las amiloidosis por TTR junto con la insatisfacción del tratamiento causal actual en algunos escenarios, ha estimulado el desarrollo de muchas líneas de investigación terapéuticas en los últimos 8-10 años<sup>(51,63)</sup>.

Actualmente, distintos ensayos clínicos se encuentran en fase de reclutamiento de pacientes<sup>(35)</sup>.

Las nuevas líneas de investigación pueden ser clasificadas según el mecanismo de acción en distintos momentos de la cascada de la amiloidogénesis:

##### 1. *Inhibición de la síntesis.*

Con el objetivo de inhibir la expresión hepática de TTR de forma selectiva, actualmente se trabaja en el bloqueo de la información genética de ADN a proteínas para mediante dos aproximaciones: ARN de interferencia (ARNi) y oligonucleótidos antisense (ASO).

- Los ARN de interferencia (ARNi) son mecanismos celulares endógenos que controlan la expresión de genes. La habilidad para transformar los ARNi en fármacos depende de los procesos bioquímicos que les confieren de propiedades de fármaco y

facilitan su segura y efectiva liberación en los órganos diana. Las formulaciones en nanopartículas lipídicas han emergido como agentes para liberar ARNi a los hepatocitos, produciendo una reducción duradera de la expresión genética de distintas dianas hepáticas. La biodistribución de las nanopartículas lipídicas administradas de forma parenteral es predominantemente al hígado, con una pequeña proporción a otros órganos con un endotelio fenestrado. La entrada al sistema nervioso central o a los ojos no se produce tras su administración sistémica<sup>(116)</sup>.

- Los oligonucleótidos antisense (ASOs), reconocidos por primera vez como herramientas terapéuticas en los años 70, son pequeñas cadenas de nucleótidos que previenen la expresión de una proteína concreta por unión selectiva al ARN que codifica para la proteína y por tanto se previene su traducción. Los ASOs han sido ya probados clínicamente para el tratamiento de enfermedades virales, cáncer y metabolopatías<sup>(57,63)</sup>.

Los estudios más precoces en este campo con distintos tipos de ARNi silenciaron la expresión de TTR tanto *in vitro* como *in vivo*. Sin embargo, las estrategias más actuales tanto de ARNi como de ASOs han demostrado inhibir tanto TTR mutada como nativa<sup>(57)</sup> a nivel hepático.

- ALN-TTR01 y ALN-TTR02 (Patisiran) son silenciadores de ARN que tienen como diana suprimir la expresión de TTR nativa y mutada. Las diferencias bioquímicas entre ambas se basan en distintos componentes lipídicos ionizables que determinan su distinta potencia. Ambas contienen un ARNi que tiene como objetivo una secuencia en la región 3' no traducida del ARN mensajero tanto de TTR nativa como mutada<sup>(116)</sup>. ALN-TTR01 ha demostrado en modelo animal prevenir y conseguir la regresión de los depósitos de TTR en nervio periférico<sup>(63,116)</sup>. Además, en pacientes con FAP, una única dosis condujo a una rápida y duradera reducción de los niveles plasmáticos de TTR, dosis-dependiente. ALN-TTR02, una nanopartícula lipídica de segunda generación, con una potencia superior a ALN-TTR01, ha demostrado también suprimir los niveles séricos de TTR en un ensayo fase I<sup>(37,116)</sup>. En cuanto a tolerancia y seguridad, no se objetivó cambio en la función tiroidea con el 94% de supresión de TTR. Sin embargo, no son suficientes los datos en cuanto a su efecto en los niveles de la proteína unida a retinol y de vitamina A.

- ISIS-TTR<sub>Rx</sub> es un oligonucleótido antisense de segunda generación dirigido contra la 184S humana de TTR, que se administra de forma subcutánea y que reduce las concentraciones de TTR sérica. Se une a la porción no traducida del ARN mensajero de TTR, produciendo su degradación y evitando la producción tanto de TTR mutada

como nativa<sup>(63)</sup>. En el modelo animal demostró una reducción del 80% de la transcripción de TTR. En el ensayo fase I mostró un perfil de seguridad atractivo, sólo con efectos secundarios limitados a reacciones cutáneas y con una disminución del 81% en voluntarios sanos<sup>(37,63)</sup>. Algunos sujetos presentaron supresión de los niveles de TTR, es decir, por debajo del rango de medición<sup>(6,26)</sup>.

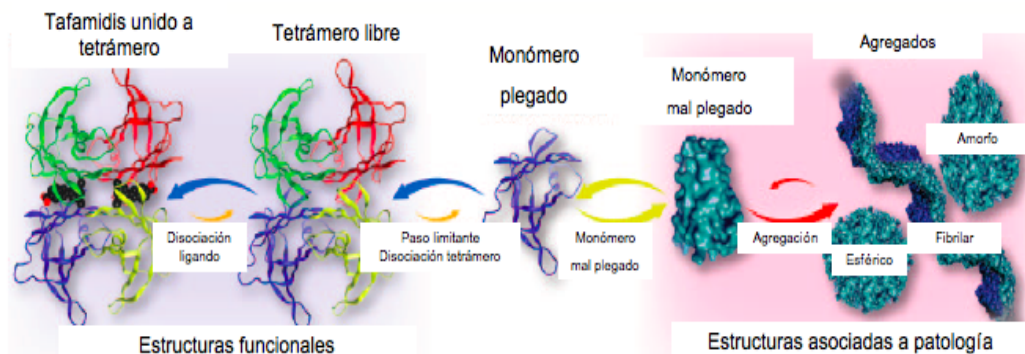
Estudios fase II/III en pacientes con FAP con ambos tratamientos se han llevado a cabo a lo largo de 2014 y sus resultados verán la luz próximamente<sup>(57)</sup>.

## 2. Inhibición de la formación.

Dado que uno de los pasos clave en la formación de las fibras de amiloide derivadas de TTR es la disociación del tetrámero normal en monómeros que pueden autoagregarse en una forma conformacional anómala, se han investigado moléculas que estabilicen el tetrámero.

Como consecuencia del descubrimiento de la mutación T119M que inhibía el desarrollo de la enfermedad, el laboratorio del *Scripps Research Institute* (La Jolla, California, Estados Unidos) generó tetrámeros de TTR recombinantes que expresaban V30M/T119M. La introducción de T119M en los homotetrámeros de V30M inhibió la disociación de TTR bajo distintas situaciones de desnaturalización. A raíz de este hallazgo, el mismo laboratorio caracterizó el sitio de unión de tiroxina y buscaron candidatos similares que pudieran unirse a ese lugar. Se identificaron dos pequeños ligandos potenciales: Diflunisal y Tafamidis (*Ilustración 32*).

*Ilustración 32. Cascada de amiloidogénesis bloqueada por la unión y estabilización de Tafamidis.*

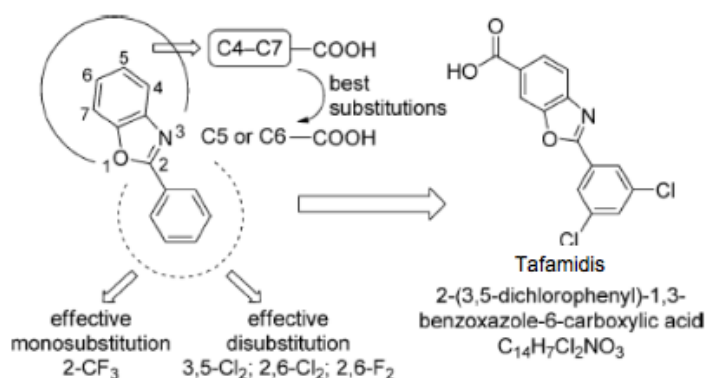


Adaptada de: Coelho T, Maia LF, Martins da Silva A, Waddington Cruz M, Planté-Bordeneuve V, Lozeron P, Suhr OB, Campistol JM, Conceição IM, Schmidt HH, Trigo P, Kelly JW, Labaudinière R, Chan J, Packman J, Wilson A, Grogan DR. Tafamidis for transthyretin familial amyloid polyneuropathy: a randomized, controlled trial. *Neurology*. 2012;79:785-92<sup>(117)</sup>.



- Tafamidis es un benzoxazol sin actividad antiinflamatoria y de dispensación oral (*Ilustración 33*).

*Ilustración 33. Estructura bioquímica de Tafamidis.*



Adaptado de: Nencetti S, Rossello A, Orlandini E. Tafamidis (Vyndaqel): a light for FAP patients. *Chem Med Chem*. 2013;8:1617-9<sup>(56)</sup>.

El primer ensayo clínico randomizado y doble ciego con un nuevo agente en Amiloidosis hereditaria por TTR, Tafamidis, supuso un gran reto<sup>(117)</sup>.

Este primer estudio incluyó pacientes V30M en estadio I y en él, Tafamidis enlenteció la alteración neurológica aunque sin alcanzar significación estadística a 18 meses en las dos escalas neurológicas empleadas como medida del *endpoint*, *NIS-LL* y *Norfolk Quality of life* (45% de los pacientes del grupo que recibió Tafamidis frente al 30% del grupo placebo;  $p=0.068$ ), aunque con mejoría del índice de masa corporal<sup>(6,55,117)</sup>. Su perfil de tolerancia fue aceptable, con efectos secundarios gastrointestinales e infecciones urinarias.

Un estudio posterior valoró su papel en pacientes no V30M. Con un tiempo de seguimiento corto y sin grupo control, se observó estabilización de TTR en el 95% de los pacientes a 6 semanas. Sin embargo, se produjo un empeoramiento de la función neurológica aunque la calidad de vida y el IMCm se mantuvieron estables. Dada la alta prevalencia de afectación cardíaca en portadores de mutación no V30M, se evaluaron por primera vez en este estudio parámetros cardíacos, sin resultados favorables en datos analíticos ni ecocardiográficos<sup>(61)</sup>.

En un ensayo clínico con Tafamidis en pacientes con miocardiopatía por TTR incluyendo 31 con forma Senil y 4 por mutación Val122I, el 60% abandonaron por muerte o efectos adversos. Entre los 12 pacientes restantes, la supervivencia a 5 años desde el inicio de síntomas fue del 86% y del 45% desde la primera administración del fármaco<sup>(26,118)</sup>. Por tanto, el papel de Tafamidis en la miocardiopatía por amiloidosis como tal está aún por resolver y se esperan con gran expectación los resultados de otros ensayos clínicos. Actualmente, un ensayo clínico randomizado y doble ciego está reclutando pacientes con amiloidosis cardíaca por transtiretina e insuficiencia cardíaca (ATTR-ACT) (<https://clinicaltrials.gov>).

Tafamidis dispone de la designación de medicamento huérfano y a pesar de los resultados del ensayo pivotal, la Agencia Europea del Medicamento (EMA) lo aprobó en 2011 para el tratamiento de ATTR en pacientes en estadio I de FAP para retrasar la progresión neurológica. También está aprobado su uso en Japón<sup>(6,37,57)</sup>. No está autorizado para estadios II y III ni en miocardiopatía<sup>(37)</sup>. Sin embargo, la FDA no ha aprobado su uso en Norteamérica por lo que no está comercializado allí<sup>(55)</sup>.

- Estudios *in vitro* con Diflunisal, un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) desarrollado en 1971 y en desuso en la actualidad, demostraron que se une a TTR en plasma, confiriéndole estabilidad<sup>(57,119,120)</sup>. A diferencia de Tafamidis que se une estrechamente, Diflunisal presenta una unión más débil, superando esta limitación con concentraciones más elevadas en plasma<sup>(55)</sup>.

Diflunisal fue objeto de un ensayo clínico internacional, multicéntrico, randomizado y doble ciego con 130 pacientes con FAP, tanto V30M como no V30M. Los resultados demostraron mantener la situación neurológica y la calidad de vida. Los efectos clínicos se mantuvieron tras 2 años de tratamiento<sup>(121)</sup>. Sin embargo, no se ha autorizado para FAP y su empleo en la actualidad en este contexto es *off-label*.

Dada la naturaleza de Diflunisal y su inhibición de la enzima cicloxigenasa (COX), se debe tener en cuenta la posible aparición de efectos secundarios como el sangrado gastrointestinal, la retención hídrica o la HTA como precipitante de IC. Se debe monitorizar además, la función renal y la aparición de neutropenia<sup>(37,57,63)</sup>.

Dado este perfil, Diflunisal no parece adecuado en pacientes con cardiopatía. Existe una muy limitada evidencia en pacientes con AC. En un estudio con múltiples limitaciones (no randomizado, escaso tiempo de seguimiento, unicéntrico y con tan sólo 13 pacientes), se evidenció seguridad a bajas dosis junto con la administración de un inhibidor de la bomba de protones (IBP) y un antagonista de receptores antihistamínicos. No se produjeron ingresos por empeoramiento de IC ni se requirió

aumentar la dosis habitual de diurético aunque un paciente fue apartado por aumento de peso. Sólo se produjo un empeoramiento significativo del aclaramiento de creatinina en el 6% de los pacientes que los autores hipotetizan como la causa de la tendencia al aumento de los niveles de troponina o NTproBNP, sin poderse excluir la progresión de la propia enfermedad<sup>(122,123)</sup>.

Por tanto, los efectos terapéuticos de ambos estabilizadores a largo plazo, incluyendo deambulación y supervivencia; a nivel de neuropatía autonómica; estadios moderados o avanzados; en pacientes no V30M y su efecto a nivel cardíaco, aún están pendientes de estudio<sup>(57,35)</sup>.

- Dado que se ha observado que el principal polifenol que constituye el té verde, el epigallocatequina-3 galato (EGCG), reduce la amiloidosis cerebral en modelos animales de Alzheimer e inhibe la formación de fibras de amiloide, se ha estudiado su acción en amiloidosis sistémica. Se ha observado que EGCG inhibe la agregación de TTR *in vitro*, en cultivo celular y en un modelo de ratón de ATTR. Además, se ha demostrado recientemente que tiene un efecto dual sobre la amiloidosis TTR en modelos animales, uniéndose a TTR en sitios distintos a T4, en el interfaz entre los dos dímeros<sup>(15,55)</sup>, así como inhibidor de la agregación de TTR y quebrantador de las fibras de amiloide<sup>(24)</sup>.

- Otros “super-estabilizadores” ya están en desarrollo<sup>(124)</sup>. Entre ellos destaca Resveratrol, un compuesto fenólico que se encuentra en la piel de la uva. En estudios *in vitro* se ha observado su capacidad para acelerar la formación de TTR nativa no tóxica<sup>(16)</sup>.

### 3. Eliminación de los depósitos.

Los depósitos de amiloide son muy estables y el propio organismo no tiene la capacidad de eliminarlos. De hecho, con el tratamiento que previene la producción de nuevo amiloide, como la quimioterapia en amiloidosis AL, se ha observado que en la mayoría de pacientes los depósitos se eliminan progresivamente y a diferentes velocidades. Concretamente, a nivel cardíaco, el aclaramiento es especialmente bajo y de hecho la evidencia de regresión por ecocardiograma es muy rara incluso a pesar del paso de los años.

Por ello, se ha investigado la puesta en práctica del concepto de inmunoterapia pasiva y se ha demostrado exitoso en modelos animales.

- Dada la presencia del componente P de amiloide sérico (SAP) de forma independiente al subtipo de amiloide, al que se le asigna un papel en la protección de la reabsorción de estos depósitos, se han desarrollado anticuerpos monoclonales anti-SAP, reactivos para todo tipo de amiloide. Un estudio en ratones que simulaba amiloidosis AA demostró que la administración de anticuerpos anti-SAP humano desencadenaba una respuesta por macrófagos y complemento-dependiente, que eliminaba rápidamente los depósitos sin efectos adversos. Se pueden administrar anticuerpos anti-SAP humanos junto con el compuesto CPHPC o bis-d-prolina que elimina SAP circulante, permitiendo al resto de anticuerpos llegar a los depósitos de amiloide<sup>(42)</sup>.

- A principios de los años 90 se demostró que la antraciclina 4'-yodo-4'-deoxidoxorubicina (I-DOX) inhibía la amiloidogénesis *in vitro* y podía mejorar el estado clínico y aumentar la reabsorción de los depósitos de amiloide en pacientes con amiloidosis AL. Secundariamente, se observó que I-DOX podía interrumpir la desorganización de los oligómeros prefibrilares.

El antibiótico doxiciclina es similar en cuanto a su estructura molecular a I-DOX y se conoce su influencia en muchas funciones de mamíferos como la proliferación celular, la migración, la apoptosis y el remodelado de la matriz<sup>(57)</sup>. También ha demostrado su capacidad de disyunción de fibras amilodeas *in vitro* y en un modelo animal trasgénico de ratón. Se trabaja en este sentido con la creencia de que la disrupción de las fibras será suficiente para desestabilizar las fibras y aumentar su degradación.

Más recientemente, se ha comprobado que el ácido tauroursodexoxicólico (TUDCA), un ácido biliar con actividad antioxidante y antiapoptótica que reduce la citotoxicidad en un variado número de enfermedades neurodegenerativas, actúa de forma sinérgica con doxiciclina, disminuyendo los depósitos de TTR<sup>(37,57)</sup>. Ambos tienen la ventaja de ser fármacos ya comercializados. Su administración consecutiva en un modelo animal redujo las medidas de daño por oxidación, apoyando su efectividad en la eliminación de los intermediarios de TTR<sup>(55)</sup>. Un ensayo con ambos compuestos en pacientes con amiloidosis TTR tanto hereditaria como Senil, ha demostrado estabilizar la enfermedad durante al menos 1 año en la mayoría de los pacientes<sup>(125)</sup>, manteniendo los niveles de NTproBNP en el 75% de ellos. Los datos preliminares de este estudio, apuntan a un perfil de seguridad aceptable con una tendencia al beneficio clínico<sup>(26)</sup>.

## 1.5. INSUFICIENCIA CARDÍACA CON FRACCIÓN DE EYECCIÓN CONSERVADA.

### *Introducción.*

Amplios estudios epidemiológicos han demostrado que la insuficiencia cardíaca puede ocurrir en presencia de FEVI normal y que los pacientes que padecen IC con fracción de eyección conservada (ICFE-C) representan en la actualidad hasta la mitad de la población de IC<sup>(126-129)</sup>.

Los cambios hemodinámicos por IC (elevación de presiones de llenado de ventrículo izquierdo y vasorelajación anormal tanto en circulación sistémica como pulmonar) y la activación neurohormonal característica de IC (eje renina-aldosterona, sistema nervioso simpático), también ocurren en ICFE-C<sup>(126)</sup>.

La ICFE-C es un síndrome complejo, caracterizado por signos y síntomas de insuficiencia cardíaca y una función ventricular normal o cerca del límite de la normalidad. Sus criterios diagnósticos han evolucionado con el tiempo, incluyendo evidencia objetiva de disfunción diastólica, cardiopatía estructural y elevación de péptidos natriuréticos. Sin embargo, muchas otras alteraciones cardíacas están presentes aparte de disfunción diastólica, como alteraciones sutiles de la función sistólica, alteración de la función auricular, incompetencia cronotrópica o elevación de la precarga.

La ICFE-C no es fácil de definir tal y como refleja el uso de varias clasificaciones hasta el momento actual<sup>(130)</sup>. De hecho, no ha existido consenso sobre el punto de corte exacto de la FEVI para definirla. El límite para considerar FEVI normal ha sido muy variable (entre 40 y 50%) tanto a nivel de diagnóstico como de estudios con medicamentos. Se debe tener en cuenta además que el valor de la FEVI puede variar según el momento en el que se determine<sup>(131)</sup>. A lo largo del tiempo, la ICFE-P se ha clasificado de forma variable como FEVI>40%, >45%, >50% y 55%<sup>(131)</sup> a pesar de no tener una FEVI normal pero tampoco una reducción marcada de la función sistólica.

Actualmente, dependiendo de la población que se analice, se estima que la mitad de los pacientes con IC son pacientes con ICFE-C<sup>(126-129)</sup>. Su prevalencia se está incrementando de forma alarmante a una tasa de 1%/año aproximadamente, por lo que se prevee que se convierta en la forma más prevalente de IC en el próximo decenio<sup>(132)</sup>.

Desde el punto de vista epidemiológico, es más frecuente entre ancianos, mujeres y obesos<sup>(127,131,133)</sup>.

Uno de los factores que ha contribuido a aumentar el interés por esta entidad es que la percepción de que la mortalidad de este grupo es similar a la de los pacientes con IC y disfunción sistólica se confirmó en estudios que mostraron que la mortalidad entre estos dos grupos no difiere sustancialmente<sup>(128,129)</sup>. La mortalidad en ICFE-C es significativa, variando del 10 al 30% anual y es mayor en estudios epidemiológicos que en ensayos clínicos. La mayoría de muertes en este subgrupo son muertes cardiovasculares<sup>(128)</sup>. En comparación con IC con FEVI deprimida, la proporción de muertes cardiovasculares, muerte súbita y por IC es menor y por tanto, las muertes no cardiovasculares son más frecuentes.

Además, estos pacientes presentan similares tasas de reingreso por IC y deterioro funcional y se enfrentan a un riesgo significativamente mayor de muerte en comparación con controles de su misma edad. Mientras el tratamiento médico y los desfibriladores han incrementado la supervivencia a 5 años de los pacientes con IC y disfunción sistólica, no se ha producido un aumento de la supervivencia de los pacientes con ICFE-C<sup>(129,132)</sup>.

### *Diagnóstico de ICFE-C.*

El diagnóstico de IC con FEVI conservada es un reto<sup>(127,133)</sup>. En general, se proponen criterios diagnósticos que compartan tres rasgos<sup>(131,132)</sup>:

#### *1. Signos y síntomas de IC.*

La fiabilidad de los signos y síntomas para diferenciar IC por disfunción sistólica e ICFE-C es muy escasa<sup>(131)</sup>. Los hallazgos clínicos y demográficos al inicio proporcionan una discriminación modesta entre FEVI conservada y FEVI deprimida. De hecho, los factores de riesgo cardiovascular son comunes a ambos subgrupos. Tampoco la cardiomegalia radiológica o el ECG permiten diferenciar FEVI normal de FEVI disminuida.

En cuanto a los niveles de BNP, existen estudios contradictorios sobre si los niveles son más altos en IC con FEVI conservada que en disfunción sistólica<sup>(131)</sup>.

Cabe destacar que pacientes en estadios iniciales de IC con FEVI conservada presentan síntomas significativos de intolerancia al ejercicio en ausencia de sobrecarga de volumen. En estos casos, medidas invasivas revelarían elevaciones patológicas de las presiones de llenado<sup>(132)</sup>.

*2. FEVI normal o levemente deprimida.*

*3. Evidencia de disfunción diastólica por datos ecocardiográficos o estudio hemodinámico.*

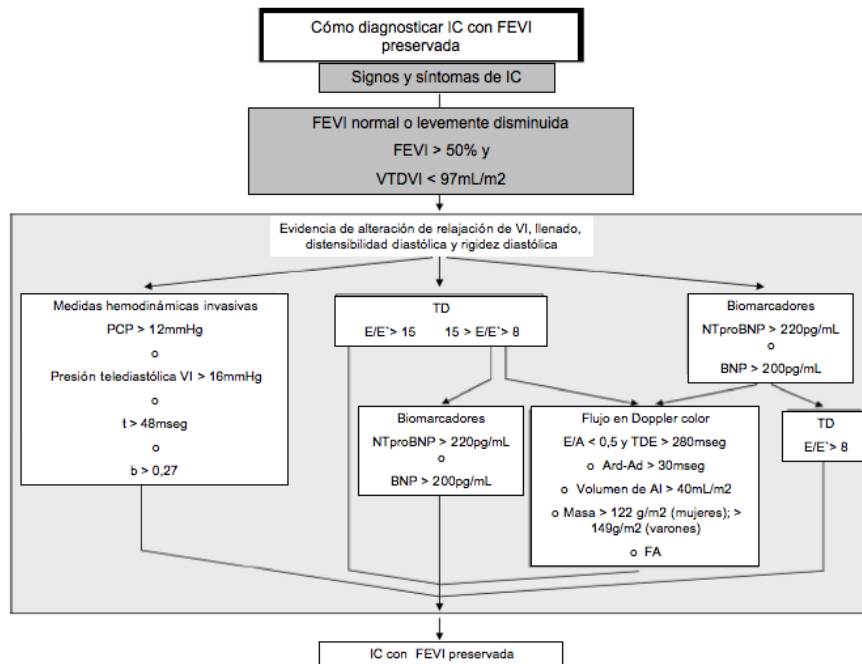
Los valores de disfunción diastólica varían con la edad, la frecuencia cardíaca y la superficie corporal. Ningún parámetro ecocardiográfico de forma aislada es suficientemente adecuado y reproducible para ser usado en el diagnóstico. Incluso en presencia de ecocardiograma y niveles de BNP o NTproBNP normales, algunos pacientes presentan elevación de presiones de llenado con el ejercicio<sup>(132)</sup>.

Se han publicado hasta el momento cuatro guías para el diagnóstico de IC FE-C<sup>(132)</sup>:

1. Grupo de trabajo de Función Miocárdica de la Sociedad Europea de Cardiología (ESC).
2. NHLBI Framingham Heart Study.
3. Yturralde and Gaasch de la Clínica Lahey.
4. Asociaciones de IC y Ecocardiografía de la ESC.

En 2005, la ESC estableció recomendaciones para su diagnóstico de forma consensuada<sup>(134)</sup> (*Ilustración 34*). Sin embargo, ninguno de los criterios publicados ha sido evaluado en su utilidad diagnóstica en largas cohortes de pacientes no seleccionados.

**Ilustración 34. Algoritmo diagnóstico de Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada.**



Adaptada de: Paulus WJ et al. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007;28:2539-50<sup>(134)</sup>.

**Leyenda:** FEVI indica Fracción de eyección de ventrículo izquierdo; VTDVI, Volumen telediastólico de ventrículo izquierdo; PCP, Presión capilar pulmonar; t, Constante de tiempo de relajación de ventrículo izquierdo; b, Constante de rigidez cavitaria de ventrículo izquierdo; VI, Ventrículo izquierdo; TD, Doppler tisular, TDE, Tiempo de desaceleración del flujo mitral; Ard, Duración del flujo sistólico reverso de venas pulmonares; Ad, Duración del flujo de la onda de la válvula auricular; AI, aurícula izquierda; FA, Fibrilación auricular.

El debate sobre si ICFE-C e IC con FEVI reducida son distintas enfermedades o dos estadios en un mismo *continuum* aún no se ha resuelto<sup>(126,129)</sup>. La distribución unimodal de la FEVI observada en algunos estudios, la existencia de una disfunción ventricular sutil en ICFE-C y de disfunción diastólica en la IC con FEVI deprimida, así como la progresión a un remodelado excéntrico del ventrículo izquierdo y disfunción sistólica en la cardiopatía hipertensiva son argumentos que apoyan el solapamiento entre ambas<sup>(126)</sup>. De hecho, los datos sugieren que la FEVI puede deteriorarse con el paso del tiempo en los pacientes con ICFE-C. Queda por tanto, una “zona gris”, entre el 40 y el 50% de FEVI<sup>(127,133)</sup>. Incluso se ha llegado a especular con que la entidad pudiera ser producto del envejecimiento normal o secundario a disfunción vascular o renal<sup>(130)</sup>. Otros estudios, por el contrario, han confirmado la observación de una distribución bimodal de la FEVI y que la progresión de la cardiopatía hipertensiva a



disfunción sistólica es infrecuente y posiblemente atribuible a causas isquémicas intrínsecas.

A pesar de las similitudes, existen entre ambas formas diferencias fundamentales en el patrón de llenado del ventrículo izquierdo y su estructura, incluso a nivel celular. El ventrículo en ICFE-C es de dimensiones normales o casi normales, con un incremento de su grosor en relación con las dimensiones de la cavidad (remodelado concéntrico). Otra diferencia es la distinta respuesta a los vasodilatadores. En ICFE-C, existe una marcada sensibilidad a los cambios de volumen y caídas sustanciales de la presión arterial con los vasodilatadores por la relación presión telediastólica-volumen<sup>(126)</sup>.

### *Fisiopatología de ICFE-C.*

En cuanto a la fisiopatología, se considera que la primera alteración es un funcionamiento diastólico del ventrículo izquierdo anormal, basado en estudios invasivos en pacientes muy seleccionados con fenotipo de ICFE-C, que presentaban incremento de rigidez pasiva de ventrículo izquierdo y relajación diastólica precoz<sup>(128)</sup>. Esta rigidez puede ser consecuencia del envejecimiento y las comorbilidades.

Alteraciones extracardíacas y comorbilidades como la hipertensión, la FA, diabetes, enfermedades pulmonares o renales, anemia u obesidad contribuyen al síndrome de ICFE-C<sup>(126,127,130,133)</sup>. Se especula que el nexo de unión entre ambas es el bajo grado de inflamación por disfunción endotelial y la alteración de la biodisponibilidad del óxido nítrico. A pesar de la asociación con diversos factores de riesgo cardiovascular, la HTA sigue siendo la causa más importante de ICFE-C, con una prevalencia entre el 60 y el 89% en grandes estudios, registros de IC y estudios epidemiológicos<sup>(127)</sup>.

Además, estudios en modelos animales y en pacientes han demostrado que el daño a otros niveles juega un papel importante incluyendo la disfunción autonómica, una reducida reserva vasodilatadora, la incompetencia cronotrópica y la asincronía sistólica y diastólica<sup>(128)</sup>.

La compleja fisiopatología del síndrome se ha reflejado también en la constante discusión sobre su terminología. Actualmente, se prefiere IC con función sistólica conservada frente a IC con función sistólica preservada o IC diastólica<sup>(131,132)</sup>. El término IC diastólica fue acuñado inicialmente para reflejar el que se creía factor predisponente principal. Sin embargo, estudios poblacionales posteriores demostraron que la disfunción diastólica estaba presente en una alta proporción de adultos sin IC y

que los pacientes con IC y disfunción sistólica tenían también predisposición a tener disfunción diastólica moderada-severa<sup>(126)</sup>.

### *Tratamiento de ICFE-C y perspectivas futuras.*

La prevención de la ICFE-C a través del tratamiento de sus factores de riesgo es efectiva. Sin embargo, una vez se instaura la IC, faltan tratamientos específicos. Frente a los fármacos que han demostrado mejorar el pronóstico y la supervivencia de pacientes con IC y FEVI reducida, ninguno de ellos ha conseguido demostrar beneficios similares en ICFE-P<sup>(133)</sup>.

No existe una única respuesta al fallo de dichos estudios. Las causas que pueden contribuir son una comprensión incompleta de la fisiopatología de la entidad, criterios diagnósticos inadecuados, inclusión de pacientes sin verdadera ICFE-C o en estadios iniciales, diseño subóptimo de los estudios, poder estadístico ineficiente o la propia heterogeneidad de los pacientes, con diferentes respuestas a los tratamientos.

La importancia de reconocer la heterogeneidad de la fisiopatología de este síndrome está enfatizada por el hecho de que la aproximación de que un tratamiento vale para todas las ICFE-C no ha proporcionado los resultados esperados<sup>(129)</sup>. Actualmente, se aboga por una mejor caracterización de forma selectiva que pudiera personalizar el tratamiento y por tanto mejorar los resultados en cuanto a pronóstico y supervivencia<sup>(130)</sup>.

La ausencia de tratamientos que hayan demostrado mejora de supervivencia y pronóstico, dificulta el manejo. Las terapias recomendadas por las guías se dirigen al manejo de los síntomas, enfatizando el papel de los diuréticos para alivio de disnea y edema, el control de las comorbilidades y de los factores de riesgo que pueden empeorar la enfermedad cardiovascular<sup>(128,129,131,135)</sup>.

Los estudios a gran escala se han centrado en los fármacos que han demostrado ser efectivos en IC y disfunción sistólica. Esto se debió a la asunción de que dado que los tratamientos en disfunción sistólica son efectivos independientemente de la causa (isquémica o no isquémica), esto debería serlo también en ICFE-C, especialmente dado que muchos pacientes presentan condiciones frecuentemente tratadas con betabloqueantes e IECAs como la HTA.

Diversos estudios con IECAs/ARA2 no han conseguido demostrar beneficio en mortalidad (estudios PEP-CHF, CHARM e I-PRESERVE) aunque se ha observado una disminución en las tasas de ingresos<sup>(128,129,132)</sup>.

Clásicamente, se había recomendado el empleo de medicaciones con efecto cronotrópico negativo en ICFE-C para incrementar el período de llenado diastólico. Sin embargo, disminuir la frecuencia cardíaca en ausencia de taquicardia sólo tiende a prolongar la diástole, donde el flujo transmitral es mínimo o ausente<sup>(132)</sup>. Además, la incompetencia cronotrópica es muy prevalente y se asocia a disfunción de esfuerzo en ICFE-C. De hecho, en el contexto de disminución de la reserva sistólica y diastólica, la reserva cronotrópica puede representar el único mecanismo para aumentar el gasto cardíaco durante el ejercicio<sup>(132)</sup>.

En este ámbito, el papel de los betabloqueantes no está resuelto<sup>(129,132)</sup>. Los datos en cuanto al empleo de antagonistas del calcio son muy escasos. Dos pequeños estudios han mostrado que Verapamil podría incrementar la capacidad de ejercicio y los síntomas de estos pacientes<sup>(133)</sup>. Podría emplearse también en pacientes con FA para control de frecuencia cardíaca<sup>(127,133)</sup> así como en el tratamiento de HTA e isquemia miocárdica, a diferencia de los pacientes con disfunción ventricular en los que su efecto inotrópico negativo puede ser peligroso. Aunque tanto Verapamil como Diltiazem han demostrado cierto efecto beneficioso, no existe evidencia concluyente a favor del uso de ninguno de los dos fármacos.

La aldosterona juega un papel importante en la patogenia de la rigidez vascular y en la disfunción endotelial<sup>(132)</sup>. Sin embargo, el año pasado, el estudio TOPCAT constituyó la gran decepción de 2014 en IC. Sus resultados no consiguieron reducir el *endpoint* primario de muerte cardiovascular, muerte cardíaca u hospitalización. Sin embargo sí consiguió reducir las hospitalizaciones por IC, aunque con un incremento del riesgo de empeoramiento de la función renal e hiperpotasemia<sup>(135)</sup>. Por lo tanto, ante el posible beneficio, las recientes guías canadienses de 2015 han incluido la recomendación del tratamiento con antialdosterónicos en pacientes seleccionados.

Otros fármacos como la digoxina y las estatinas (estudios DIG y CORONA) han sido también objeto de estudio en ICFE-C, con resultados neutrales<sup>(128,131,132)</sup>. Nuevos fármacos con resultados prometedores en ICFE-C están actualmente reclutando pacientes para valorar su efecto (estudio PARAMOUNT con LCZ696)<sup>(128,129)</sup>.

Por tanto, el tratamiento actual de la IC con FEVI conservada se basa en el tratamiento sintomático para aliviar la disnea y los edemas, intentar mantener el ritmo sinusal, medidas no farmacológicas (higiénico-dietéticas, vacunación, restricción de líquidos e ingesta sódica<sup>(127)</sup>, actividad física aeróbica) y manejo y tratamiento de las comorbilidades<sup>(131)</sup>. La importancia de su ajuste se debe a que pueden influir en el uso

de fármacos para IC, fármacos para su tratamiento pueden empeorar la IC, son predictores de peor pronóstico e implican un peor estado clínico.

Los resultados de todos los estudios refuerzan la idea de que ICFE-C es claramente diferente a la IC con disfunción sistólica y que los fármacos que son eficaces en una no tienen por que serlo en la otra.

Un estudio reciente de autopsias ha proporcionado evidencia preliminar de que la amiloidosis TTR es más prevalente en pacientes con IC y FEVI conservada. Se incluyeron 109 pacientes de la Clínica Mayo (Rochester, EEUU) entre 1986 y 2001 a los que se les realizó la autopsia. En un 5% de ellos se encontró un depósito de amiloide moderado-severo de TTR en el ventrículo izquierdo, consistente con amiloidosis cardíaca por TTR como primera etiología. Además, se observó depósito a nivel intramural en el 12% de los sujetos. Ninguno de estos pacientes había sido diagnosticado de amiloidosis cardíaca antes del fallecimiento<sup>(136)</sup>.

## CAPÍTULO 2

---

### **PREVALENCIA DE AMILOIDOSIS SENIL EN PACIENTES INGRESADOS POR INSUFICIENCIA CARDÍACA CON FRACCIÓN DE EYECCIÓN CONSERVADA MEDIANTE EL EMPLEO DE GAMMAGRAFÍA CARDÍACA**

## **CAPÍTULO 2. PREVALENCIA DE AMILOIDOSIS SENIL EN PACIENTES INGRESADOS POR INSUFICIENCIA CARDÍACA CON FRACCIÓN DE EYECCIÓN CONSERVADA MEDIANTE EL EMPLEO DE GAMMAGRAFÍA CARDÍACA.**

### **2.1. OBJETIVOS DEL ESTUDIO.**

1. Determinar la prevalencia de Amiloidosis Senil entre los pacientes ancianos ingresados por insuficiencia cardíaca con función sistólica conservada.
2. Evaluar la seguridad y la eficacia de un protocolo basado en la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD para diagnosticar Amiloidosis cardíaca Senil.

### **2.2. HIPÓTESIS.**

La Amiloidosis Senil es una causa significativa de ICFE-C en pacientes ancianos ingresados por descompensación de IC.

### **2.3. MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se realizó un estudio prospectivo, transversal y unicéntrico en el Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, entre septiembre de 2011 y julio de 2014. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de la misma institución y se realizó en conformidad con los principios de la Declaración de Helsinki. Todos los participantes firmaron consentimiento informado por escrito, aceptando su participación.

#### *Diseño del estudio.*

Se incluyeron de forma consecutiva todos los pacientes ingresados en los servicios de Cardiología y Medicina Interna de nuestro centro durante un período de 35 y 13 meses, respectivamente. El estudio se inició teniendo en cuenta sólo a los pacientes con ICFE-C ingresados en Cardiología y posteriormente se amplió los pacientes con esta misma patología ingresados en Medicina Interna.

A todos los pacientes que cumplieran criterios de inclusión y no presentaban criterios de exclusión se les ofreció participar en el estudio. A todos aquellos que aceptaron participar, se les realizó una gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD durante el ingreso o de forma ambulatoria durante las siguientes semanas después del alta.

#### *Pacientes del estudio.*

Los criterios de inclusión del estudio fueron:

- Edad superior a 60 años.
- Signos y síntomas de Insuficiencia cardíaca (IC) compatibles con clases II-IV de la New York Heart Association (NYHA), con fracción de eyección de ventrículo izquierdo del 50% o más, según la definición de IC FE-C de la ESC<sup>(134)</sup> (*Ilustración 34*).
- Hipertrofia ventricular izquierda definida como un grosor ventricular izquierdo telediastólico mayor o igual a 12 mm, medido por ecocardiograma transtorácico en el plano paraesternal eje largo (*Ilustración 35*) realizado durante el ingreso.

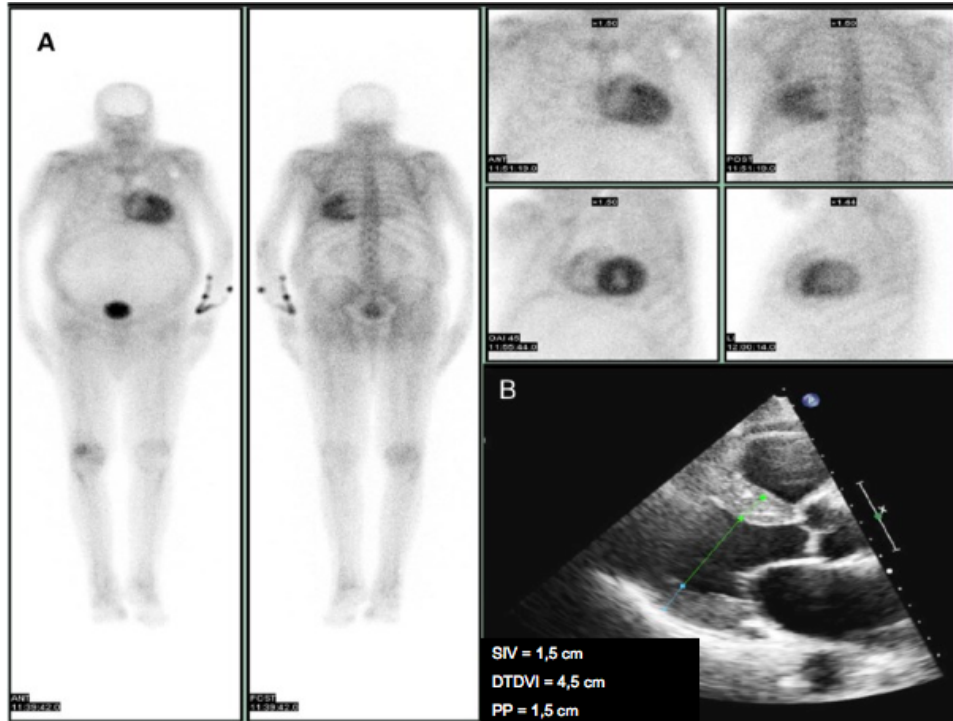
Los pacientes con diagnóstico previo de Miocardiopatía restrictiva (MCR) o Miocardiopatía hipertrófica (MCH) no fueron excluidos, siempre y cuando cumplieran todos los criterios de inclusión anteriores.

Los criterios de exclusión fueron:

- Presencia o historia de enfermedad valvular significativa definida como estenosis o insuficiencia valvular izquierda moderada o severa.
- Presencia o antecedentes de enfermedad coronaria significativa definida como:
  - Infarto de miocardio previo.
  - Estenosis en tronco coronario.
  - Estenosis en arteria descendente anterior (DA) proximal o estenosis significativa en dos arterias coronarias principales.

*Ilustración 35. Correlación ecocardiográfica de gammagrafía DPD positiva.*

**A)** Gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD positiva con captación biventricular y severa (grado 3). **B)** Ecocardiograma transtorácico en eje paraesternal largo mostrando hipertrofia ventricular izquierda.



*Legenda: ANT indica Anterior; POST, Posterior; LAO, Oblicua anterior izquierda; LL, Lateral izquierda; SIV, grosor del septo interventricular; DTDVI, diámetro telediastólico de ventrículo izquierdo; PP, grosor de la pared posterior.*

#### *Recogida de datos.*

Se revisaron las historias clínicas de todos los pacientes de forma ciega a los resultados de la gammagrafía. Se recogieron las características demográficas y clínicas durante el ingreso. La información sobre cada paciente se obtuvo a través de la historia clínica o por llamadas telefónicas al paciente o a su Médico de Atención Primaria (MAP).

La hipertensión arterial se definió en base a la historia clínica o por el empleo de medicación antihipertensiva al ingreso. Para cada paciente, se tomó la cifra de tensión arterial de la primera medición disponible en la historia clínica.

En cuanto a las determinaciones de los análisis sanguíneos, se recogieron a partir de la primera analítica de sangre al ingreso. El aclaramiento de creatinina se calculó utilizando la fórmula CKD-EPI<sup>(137)</sup>.



Las características de los electrocardiogramas (ECG) se basaron en definiciones estándar, utilizando el primer ECG disponible durante el ingreso. Se consideró criterio de bajo voltaje electrocardiográfico cuando la amplitud del QRS era igual o menor de 0.5 mV en todas las derivaciones de los miembros o igual o menor de 1 mV en todas las derivaciones precordiales. La hipertrofia de ventrículo izquierdo por ECG se evaluó de acuerdo con los criterios de Sokolow<sup>(138)</sup>. Se definió mala progresión de la R precordial según los criterios DePace<sup>(139)</sup> y se calculó el ratio voltaje-masa como el índice de Sokolow dividido por el índice de masa del ventrículo izquierdo<sup>(74)</sup>. Se excluyeron los complejos de QRS estimulados por marcapaso.

Las ecocardiografías se realizaron con un sistema Philips iE33 (Philips Medical Systems, Eindhoven, Holanda). La cuantificación de las dimensiones ventriculares y el cálculo de la función ventricular se basó en las recomendaciones estándar según las guías publicadas por la Asociación Europea de Ecocardiografía<sup>(140)</sup>. El grosor de las paredes ventriculares a nivel tanto septal como en pared posterior se obtuvieron en telediástole en el plano paraesternal eje largo. Los patrones de hipertrofia se definieron de acuerdo con los métodos publicados anteriormente<sup>(140,141)</sup>.

#### *Protocolo de Gammagrafía.*

Los pacientes fueron escaneados utilizando una tomografía 2 GE Medical Systems híbrido computarizada por emisión de fotones y cámaras gamma de tomografía computarizada (Infinia y Infinia Hawkeye) tras la administración intravenosa de 740 MBq de <sup>99m</sup>Tc-DPD (*Ilustración 35*).

La preparación del <sup>99m</sup>Tc-DPD y su control de calidad se llevaron a cabo según las instrucciones descritas por el fabricante (TeceosW, CIS Bio International; Gif-sur-Yvette, France). La pureza radioquímica de la preparación fue del 98 ±1% (97-99,1%).

En todos los pacientes, siguiendo el protocolo previamente publicado por el grupo<sup>(4)</sup>, se obtuvieron imágenes a las 3 horas de la administración de <sup>99m</sup>Tc-DPD de cuerpo completo en proyecciones anterior y posterior y selectivas del área cardíaca en proyecciones anterior, oblicua anterior izquierda de 45° y lateral izquierda.

Las imágenes se obtuvieron con los siguientes parámetros:

- a) Imagen de cuerpo completo: Colimador LEHR, matriz 512 × 256, 3.000 Kc.
- b) Imágenes selectivas cardíacas: Colimador LEHR, matriz 256 × 256, 1.000 Kc, zoom 1,3.

Dos médicos especialistas en Medicina Nuclear, ciegos a los datos clínicos de los pacientes, analizaron de forma independiente las imágenes resultantes en escala de grises. Las discrepancias se resolvieron por consenso.

Los resultados de cada estudio se evaluaron para establecer por un lado, la existencia e intensidad de captación miocárdica y por otro lado, para determinar su distribución. Además, se valoró la relación en la distribución del radiotrazador entre las estructuras óseas y las partes blandas como índice de su adecuado aclaramiento y de la calidad de la imagen.

La intensidad del depósito se clasificó de acuerdo a una escala visual previamente publicada que va de 0 a 3 puntos<sup>(95)</sup>:

- Ausencia de captación: 0 puntos.
- Absorción menor que la de hueso, referido a la costilla adyacente: 1 punto.
- Absorción similar a la del hueso: 2 puntos.
- Absorción mayor que la de los huesos: 3 puntos.

La distribución del depósito en el miocardio se valoró como depósito focal, difuso en un segmento de la pared ventricular, difuso ventricular o depósito difuso biventricular.

La gammagrafía se consideró positiva cuando se observó una captación moderada o severa de <sup>99m</sup>Tc-DPD (puntuación 2-3) en ambos ventrículos.

#### *Genotipado e histología.*

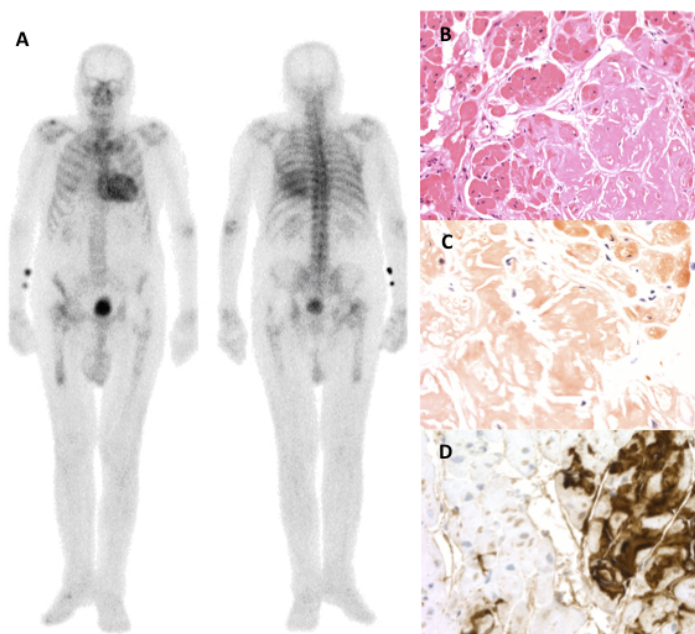
Todos los pacientes con captación moderada o severa de <sup>99m</sup>Tc-DPD en la gammagrafía se sometieron a análisis genético para descartar mutaciones en el gen transtiretina (TTR). Se amplificaron mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR) todas las regiones codificantes del gen TTR. Los fragmentos de ADN amplificados fueron secuenciados directamente utilizando un ABI 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Los pacientes con captación significativa en la gammagrafía se sometieron a biopsia de grasa abdominal, glándula salival o endomiocárdica (BEM) según indicación por parte de su/s médico/s responsable/s.

Las secciones de las biopsias, fijadas en formol e incluidas en parafina se tiñeron con Hematoxilina-eosina y Rojo Congo (*Ilustración 36*).

*Ilustración 36. Correlación histológica con gammagrafía DPD positiva.*

**A)** Gammagrafía  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD positiva con captación biventricular y severa en proyecciones anterior y posterior. **B)** Histología de muestras de biopsia endomiocárdica del mismo paciente, mostrando depósito de amiloide con tinción Hematoxilina-eosina ( $\times 200$ ). **C)** Tinción Rojo Congo ( $\times 400$ ). **D)** Inmunohistoquímica positiva para transtiretina ( $\times 400$ ).



La inmunofijación se realizó utilizando los siguientes anticuerpos: anticuerpo monoclonal dirigido contra el amiloide AA, TTR, cadena ligera  $\lambda$  y cadena ligera  $\kappa$  (todos de Dako, Glostrup, Dinamarca) (Ilustración 36). La especificidad de la inmunofijación fue controlada utilizando muestras que contenían clases conocidas de amiloide. La omisión de los anticuerpos primarios sirvieron como controles negativos.

*Análisis estadístico.*

Las variables con distribución normal se expresaron como la media y la desviación estándar (DE), mientras que las variables de distribución anormal fueron descritas como la mediana y el rango intercuartílico (RIC).

En cuanto al análisis univariado de comparación de datos entre los dos grupos se realizó mediante la prueba *t de Student* no pareada para las variables continuas con distribución normal o mediante prueba de *chi-cuadrado* para las variables categóricas. La prueba de *U de Mann-Whitney* se utilizó en los casos de variables con distribución no normal.

Los análisis de supervivencia se realizaron mediante el *método de Kaplan-Meier* y se empleó el test de log-rank para la comparación.

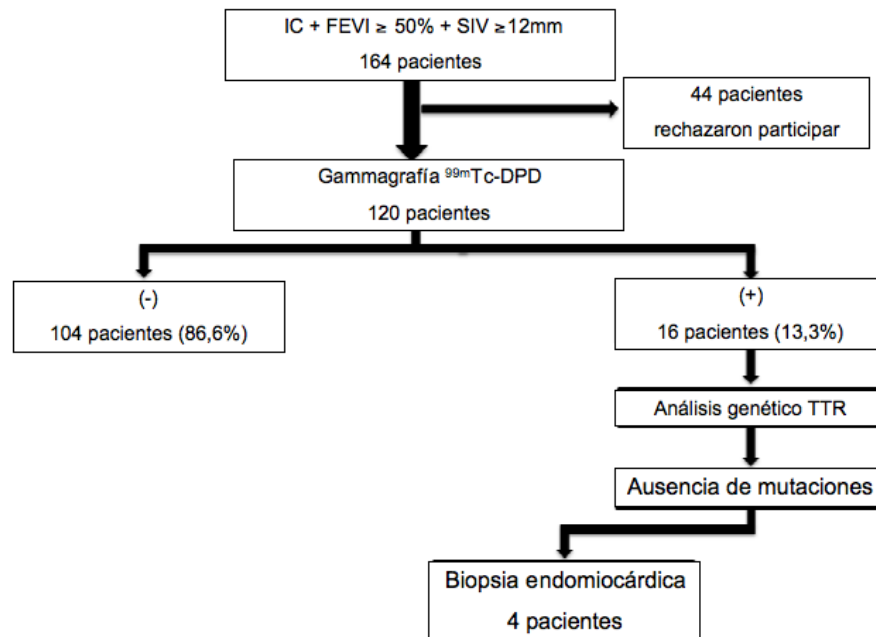
Un valor de  $p < 0,05$  fue considerado estadísticamente significativo. Todas las pruebas de hipótesis fueron bilaterales.

Todo el análisis estadístico se realizó con SPSS Statistics (versión 15.0).

## 2.4. RESULTADOS.

Durante el período de estudio, 164 pacientes ingresaron debido a insuficiencia cardíaca con función sistólica conservada y cumplían los criterios de inclusión sin presentar criterios de exclusión. Un total de 44 pacientes (27%) rechazaron participar en el estudio, mientras que 120 (73%) pacientes aceptaron ser incluidos y la realización de una gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD. La *Ilustración 37* muestra el diagrama de flujo del estudio.

*Ilustración 37. Distribución de la cohorte y diagrama de flujo de participación de pacientes.*



IC indica Insuficiencia cardíaca; FEVI, Fracción de ejcción de ventrículo izquierdo; SIV, Grosor del septo interventricular; TTR, Transtiretina.

*Cohorte global del estudio.*

Entre los 120 pacientes incluidos, 71 (59%) de ellos eran mujeres y la edad media fue de  $82 \pm 8$  años (*Tabla 13*).

*Tabla 13: Características clínicas, analíticas, electrocardiográficas y ecocardiográficas de los pacientes con ICFE-C incluidos en el estudio (n=120).*

<b>Edad, años</b>	82±8
<b>Género masculino, n (%)</b>	49 (41%)
<b>Mediana duración estancia, días</b>	8 (6-15)
<b>Comorbilidades</b>	
Hipertensión arterial, n (%)	101 (84%)
Diabetes mellitus, n (%)	45 (37%)
Enfermedad coronaria, n (%)	11 (9%)
<b>Características clínicas</b>	
Tensión arterial sistólica, mmHg	135±26
Tensión arterial diastólica, mmHg	78±21
<b>Análisis sanguíneos</b>	
Media CCr, mL/min/1.73m <sup>2</sup>	58±24
Media Hemoglobina, g/dL	12±2
Mediana NTproBNP, pg/L	3524 (1500-7500)
<b>Electrocardiograma</b>	
FA, n (%)	80 (66%)
Marcapasos, n (%)	19 (16%)
Media intervalo PR, mseg.	175±40
Media intervalo QRS, mseg.	103±23
BRI/BRD, n (%)	20 (20%)
Bajo voltaje, n (%)	31 (31%)
HVI, n (%)	15 (19%)
Patrón Pseudoinfarto, n (%)	19 (19%)

Mala progresión de la R en precordiales, n (%)	39 (39%)
Mediana Ratio voltaje-masa, mm/cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup>	0,86 (0,58-1,41)
<b>Ecocardiografía</b>	
Media FEVI, %	61±8
Media diámetro telediastólico de VI, mm	42±8
Mediana grosor máximo septal, mm	14 (17-13)
Patrón de hipertrofia concéntrica, n (%)	67 (56%)
Patrón de hipertrofia asimétrica, n (%)	53 (44%)
Media Masa VI indexada, g/m <sup>2</sup>	121±39
Derrame pericárdico, n (%)	26 (22%)

Los datos se presentan como media±desviación estándar o mediana (RIC).

*CCr indica Aclaramiento de Creatinina; FA, Fibrilación auricular; BRI/BRD, Bloqueo de rama derecha/izquierda; HVI, Hipertrofia ventricular izquierda; FEVI, Fracción de eyección de ventrículo izquierdo.*

Sesenta y cuatro pacientes (53%) fueron ingresados en Cardiología y 56 (47%) en Medicina Interna. No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos, excepto que los pacientes ingresados en Medicina Interna eran mayores y tenían niveles más bajos de hemoglobina, mientras que la fibrilación auricular (FA) fue más frecuente entre los pacientes ingresados en Cardiología (*Tabla 14*).

*Tabla 14. Características clínicas, epidemiológicas, analíticas, electrocardiográficas y ecocardiográficas según servicio de ingreso (Cardiología vs Medicina Interna).*

	<b>Ingresados en Cardiología (n=64)</b>	<b>Ingresados en Medicina Interna (n=56)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Edad, años</b>	80±9	85±7	0,001
<b>Género masculino, n (%)</b>	29 (45%)	20 (36%)	0,286
<b>Mortalidad durante el seguimiento, n (%)</b>	15 (23%)	11 (20%)	0,615
<b>Comorbilidades</b>			
Hipertensión arterial, n (%)	55 (86%)	46 (82%)	0,57
Diabetes mellitus, n (%)	25 (39%)	20 (36%)	0,705
Enfermedad coronaria, n (%)	8 (12,5%)	3 (5%)	0,176
<b>Análisis sanguíneos</b>			
Media CCr, mL/min/1.73m <sup>2</sup>	61±24	54±24	0,108
Media Hemoglobina, g/dL	13±2	12±2	0,03
Mediana NTproBNP, pg/L	3408 (297-59577)	4127 (253-27509)	0,912
Mediana Troponina I ultrasensible, µg/L	0,04 (0.017-1,74)	0,02 (0.017-1,91)	0,367
<b>Electrocardiograma</b>			
Fibrilación auricular, n (%)	48 (75%)	32 (57%)	0,038
Marcapasos, n (%)	8 (12,5%)	11 (20%)	0,285
Media intervalo QRS, ms	100±22	106±25	0,137
Bajo voltaje, n (%)	21 (34%)	10 (20%)	0,092
Patrón Pseudoinfarto, n (%)	14 (23%)	5 (10%)	0,087
Mala progresión de la R en precordiales, n (%)	25 (42%)	14 (29%)	0,137
Mediana Ratio voltaje-masa, mm/cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup>	0.85 (0,56-1,16)	1.18 (0,63-1,9)	0,057
<b>Ecocardiografía</b>			
Media FEVI, %	61±8	62±8	0,45
Media diámetro telediastólico de VI, mm	43±8	40±8	0,051
Mediana grosor máximo septal, mm	14,5 (12-23)	14 (12-25)	0,848

Mediana grosor pared posterior, mm	12 (8-25)	12 (8-19)	0,733
Media Masa VI indexada, g/m <sup>2</sup>	124±40	118±38	0,43
Relación E/A	1,2±0,6	0,97±0,6	0,094
Tiempo de Desaceleración, mseg.	203±89	202±61	0,969
Relación E/E' lateral	16±9	13±6	0,183
Derrame pericárdico, n (%)	14 (23%)	12 (21%)	0,843

Los datos se presentan como media±desviación estándar o mediana (RIC).

CCr indica Aclaramiento de Creatinina; FEVI, Fracción de eyección de ventrículo izquierdo.

La estancia media fue de 8 (RIC 6-15) días. Tres pacientes (2,5%) fallecieron durante el ingreso y 26 (21,7%) durante el seguimiento.

La mayoría de los pacientes tenían antecedentes de hipertensión arterial (101; 84%), 45 (38%) eran diabéticos y sólo 11 pacientes (9%) tenían enfermedad coronaria, que no cumplía criterio de exclusión. La mediana de NT-proBNP fue de 3524 pg/L (RIC 1500-7500).

La presencia de FA en cualquiera de sus formas (paroxística, persistente o permanente) se constató en 80 pacientes (67%) y 19 (16%) eran portadores de un marcapasos permanente.

La fracción de eyección (FEVI) media fue de 61±8% y la mediana de grosor máximo a nivel del tabique interventricular fue de 14 mm. (RIC 13-17). Otras características clínicas, ecocardiográficas y electrocardiográficas se presentan en la *Tabla 13*.

Respecto a los resultados de la gammagrafía con <sup>99m</sup>Tc-DPD, 104 pacientes (86,7%) no mostraron captación o la captación del trazador fue de grado leve mientras que 16 pacientes (13,3%; IC 95%: 7,2-19,5) mostraron una captación intensa.

Ningún paciente tuvo ningún evento adverso relacionado con la exploración y no se reportaron incidentes.

No se encontraron diferencias significativas en función del género entre los pacientes con gammagrafía positiva (*Tabla 15*).



*Tabla 15. Características clínicas, epidemiológicas, analíticas, electrocardiográficas y ecocardiográficas según género en el grupo con gammagrafía <sup>99m</sup>Tc-DPD positiva.*

	<b>Varones</b> (n=8)	<b>Mujeres</b> (n=8)	<b>Valor p</b>
<b>Edad, años</b>	87±7	87±6	0,849
<b>Comorbilidades</b>			
Hipertensión arterial, n (%)	6 (75%)	8 (100%)	0,45
Diabetes mellitus, n (%)	2 (25%)	2 (25%)	1
Enfermedad coronaria, n (%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)	1
<b>Análisis sanguíneos</b>			
Media CCr, mL/min/1.73m <sup>2</sup>	48±19	53±15	0,51
Media Hemoglobina, g/dL	12±2	13±1	0,129
Mediana NTproBNP, pg/L	4671 (1143-24241)	11308 (1815-20741)	0,463
Mediana Troponina I ultrasensible, µg/L	0,11 (0.017-0,41)	0,14 (0.05-1,91)	0,345
<b>Electrocardiograma</b>			
Fibrilación auricular, n (%)	7 (87,5%)	6 (75%)	1
Marcapasos, n (%)	3 (37,5%)	4 (50%)	1
Media intervalo QRS, ms	113±21	114±30	0,944
Bajo voltaje, n (%)	3 (50%)	2 (33%)	1
Patrón Pseudoinfarto, n (%)	1 (17%)	3 (60%)	0,242
Mala progresión de la R en precordiales, n (%)	4 (67%)	1 (20%)	0,242
<b>Ecocardiografía</b>			
Media FEVI, %	58±6	63±8	0,228
Media diámetro telediastólico de VI, mm	43±6	39±4	0,169
Mediana grosor máximo septal, mm	17 (12-25)	20 (13-21)	0,279
Mediana grosor pared posterior, mm	12,5 (11-19)	13,5 (10-21)	0,721
Media Masa VI indexada, g/m <sup>2</sup>	159±33	165±55	0,787
Relación E/A	1,2±0,7	1,6±0,3	0,094
Tiempo de Desaceleración, mseg.	173±71	227±25	0,261

Relación E/E` lateral	16±7	21±11	0,555
Derrame pericárdico, n (%)	5 (62,5%)	2 (25%)	0,313

*Los datos se presentan como media±desviación estándar o mediana (RIC).*

*CCr indica Aclaramiento de Creatinina; FEVI, Fracción de eyección de ventrículo izquierdo.*

Todos los pacientes con gammagrafía positiva, se sometieron a análisis genético para secuenciar todos los exones del gen TTR. Ninguno de ellos mostró mutaciones.

Además, 4 pacientes (25%) se sometieron a biopsia endomiocárdica, en la que se confirmó amiloidosis TTR en todos los casos mediante tinción con Rojo Congo y técnicas de inmunohistoquímica (*Ilustración 36*).

Tres de estos cuatro pacientes se habían sometido a biopsias extracardiacas previas (3 glándulas salivales y 1 de grasa abdominal) y ninguno mostró depósitos de amiloide. Otros dos pacientes con gammagrafía positiva tenían biopsias extracardiacas (2 glándulas salivales y 1 de grasa abdominal) y también fueron negativas.

#### *Amiloidosis cardíaca Senil frente a ICFE-C.*

No hubo diferencias significativas en la edad, el sexo o la estancia media entre los pacientes con gammagrafía positiva respecto a los pacientes del grupo de gammagrafía negativa (*Tabla 16*).

Durante una mediana de seguimiento de 7 meses (RIC 2,8 a 14), 5 (31%) pacientes con ICFE-C causada por Amiloidosis cardíaca Senil y 21 (20%) con otras formas IC fallecieron. La mortalidad por insuficiencia cardíaca se produjo únicamente entre los pacientes del grupo de IC con gammagrafía negativa. No se observaron diferencias en la mortalidad ( $p = 0,335$ ) y en la supervivencia a los 3, 6 y 12 meses ( $p$  Logrank 0,76) entre ambos grupos (*Tabla 16*).

*Tabla 16. Características clínicas, epidemiológicas, analíticas, electrocardiográficas y ecocardiográficas según el resultado de la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD.*

	<b>Amiloidosis Senil (Gammagrafía <math>^{99m}\text{Tc}</math>-DPD +) (n=16)</b>	<b>Otras formas de IC con FEVI conservada (<math>^{99m}\text{Tc}</math>-DPD -) (n=104)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Edad, años</b>	86±6	81±8	0,121
<b>Género masculino, n (%)</b>	8 (50%)	41 (39%)	0,423
<b>Mediana duración ingreso, días</b>	8 (6-14)	8 (6-15)	0,994
<b>Mortalidad, n (%)</b>	5 (31%)	21 (20%)	0,335
<b>Supervivencia</b>			
A 3 meses, % (IC 95%)	87% (71-100)	90% (84-96)	0,76
A 6 meses, % (IC 95%)	87% (71-100)	83% (75-91)	0,76
A 12 meses, % (IC 95%)	73% (51-95%)	72% (66-86)	0,76
<b>Comorbilidades</b>			
Hipertensión arterial, n (%)	14 (88%)	87 (84%)	0,980
Diabetes mellitus, n (%)	4 (25%)	41 (39%)	0,267
Enfermedad coronaria, n (%)	2 (13%)	9 (9%)	0,975
<b>Tratamiento</b>			
Diuréticos de asa, n (%)	16 (100%)	104 (100%)	1
Diuréticos no de asa, n (%)	3 (18%)	16 (16%)	1
IECA/ARA2, n (%)	5 (31%)	53 (52%)	0,123
Betabloqueantes, n (%)	5 (31%)	48 (48%)	0,224
Antagonistas del calcio, n (%)	1 (7%)	8 (8%)	1
Antagonistas de Aldosterona, n (%)	3 (19%)	12 (12%)	0,707
Amiodarona, n (%)	1 (7%)	10 (10%)	1
Anticoagulación, n (%)	12 (75%)	68 (67%)	0,746
<b>Características clínicas</b>			
Tensión arterial sistólica, mmHg	127±19	136±26	0,141
Tensión arterial diastólica, mmHg	74±17	78±22	0,407
<b>Análisis sanguíneos</b>			
Media CCr, mL/min/1.73m <sup>2</sup>	50±17	59±24	0,093

Media Hemoglobina, g/dL	13±1	12±2	0,253
Mediana NTproBNP, pg/L	6467 (2818-13146)	3173 (1363-7139)	0,019
Mediana Troponina I ultrasensible, µg/L	0,135 (0,017-1,91)	0,025 (0,017-1,74)	0,001
<b>Electrocardiograma</b>			
FA, n (%)	13 (81%)	67 (64%)	0,184
Marcapasos, n (%)	7 (44%)	12 (12%)	0,004
Media intervalo PR, mseg.	177±3	175±41	0,934
Media intervalo QRS, mseg.	114±25	101±23	0,062
Bajo voltaje, n (%)	5 (42%)	26 (26%)	0,434
Patrón Pseudoinfarto, n (%)	4 (36%)	15 (15%)	0,185
Mala progresión de la R en precordiales, n (%)	5 (45,5%)	34 (35%)	0,727
Mediana Ratio voltaje-masa, mm/cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup>	0,56 (0,3-0,85)	0,95 (0,65-1,47)	0,005
<b>Ecocardiografía</b>			
Media FEVI (%)	60±7	61±8	0,501
Media diámetro telediastólico de VI, mm	41±5,5	42±8	0,796
Media grosor parietal medio, mm	17±3,4	14±2,5	0,001
Mediana grosor máximo septal, mm	18 (15,7-21)	14 (13-16)	0,001
Mediana grosor pared posterior, mm	12,5 (11-17)	11,5 (10-13)	0,028
Patrón hipertrofia concéntrica, n (%)	8 (50%)	59 (57%)	0,788
Patrón hipertrofia asimétrica, n (%)	8 (50%)	45 (43%)	0,788
Relación E/A	1,3±0,6	1,1±0,6	0,38
Tiempo de Desaceleración, mseg.	191±64	204±80	0,639
Relación E/E' lateral	20±9	14±7	0,600
Media Masa VI indexada, g/m <sup>2</sup>	161±43	115±34	0,001
Derrame pericárdico	7 (44%)	19 (19%)	0,047

Los datos se presentan como media±desviación estándar o mediana (RIC).

IECA indica Inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina; ARA 2, Antagonista de los receptores de angiotensina II; CCr, Aclaramiento de creatinina; FA, Fibrilación auricular; FEVI, Fracción de eyección de ventrículo izquierdo.

Las características clínicas fueron similares entre ambos grupos y no existían diferencias significativas en cuanto a la historia previa de hipertensión arterial, diabetes o enfermedad coronaria. El tratamiento médico al alta de IC también fue similar entre ambos grupos (*Tabla 16*). Aunque los valores de función renal y hemoglobina fueron similares, los pacientes con gammagrafía positiva presentaban una mediana de NT-proBNP mayor (6467 vs 3173 pg/l;  $p=0,019$ ) así como de Troponina I ultrasensible (0.135 vs 0.025  $\mu\text{g/L}$ ;  $p<0.001$ ).

En cuanto a las características del ECG fueron casi idénticas para ambos grupos y no se encontraron diferencias en la presencia de FA, el intervalo PR, la duración del QRS, bajo voltaje, mala progresión de la R en precordiales o patrón de pseudoinfarto (*Tabla 16*). Sin embargo, los pacientes con gammagrafía positiva presentaban un ratio voltaje-masa más bajo (0,56 vs. 0,95  $\text{mm/cm}^2_{\text{m}^2}$ ;  $p=0,005$ ) y un porcentaje significativamente mayor de marcapasos (43,8% frente a 11,5%;  $p=0,004$ ).

El análisis ecocardiográfico mostró que, mientras la FEVI media era similar entre los dos grupos (*Tabla 16*), el grosor parietal máximo tanto a nivel del tabique como en la pared posterior, fue significativamente superior en el grupo de gammagrafías positivas (mediana de 18 mm. (RIC 15,7-21) vs. 14 mm. (RIC 13-16),  $p=0,001$  y 12,5 mm. (RIC 11-17) vs. 11,5 mm. (RIC 10-13),  $p=0,028$ , respectivamente). Además, la masa del ventrículo izquierdo fue significativamente mayor ( $161 \pm 43$  vs.  $115 \pm 34$   $\text{g/m}^2$ ;  $p<0,001$ ), así como la presencia de derrame pericárdico (44% vs. 19%;  $p=0,047$ ). Sin embargo, el patrón de hipertrofia y los parámetros de función diastólica (relación E/A, Doppler tisular, relación E/E' lateral) no difirió entre ambos grupos.

## 2.5. DISCUSIÓN.

Este estudio es el primero en evaluar prospectivamente la prevalencia de Amiloidosis Senil entre los pacientes de edad avanzada con IC y función sistólica conservada. Considerando una gammagrafía cardíaca con  $^{99\text{m}}\text{Tc-DPD}$  positiva como altamente sugerente de amiloidosis cardíaca por transtiretina, este estudio muestra que la Amiloidosis Senil representa el 13% de los casos de IC FE-C que requieren ingreso.

Por otra parte, este estudio demuestra que un protocolo basado en la gammagrafía con  $^{99\text{m}}\text{Tc-DPD}$  es seguro en este contexto clínico y que la superposición clínica entre Amiloidosis cardíaca Senil y las otras formas de IC con función sistólica conservada es

muy alta, sin características específicas que permitan distinguir *a priori* a los pacientes con Amiloidosis Senil.

*Implicaciones para IC con función sistólica conservada.*

En contraste con la IC con disfunción ventricular, en los últimos 20 años ha habido poco o ningún progreso en el desarrollo de tratamientos eficaces en el campo de la IC con función sistólica conservada<sup>(126,129,130)</sup>. A pesar de la alta prevalencia, mortalidad y coste asociados a la IC con función sistólica conservada, los ensayos clínicos que han estudiado fármacos para esta entidad han proporcionado resultados decepcionantes<sup>(126,129,130)</sup>. La ausencia de efectos beneficiosos de los vasodilatadores, la espironolactona y otros compuestos como la digoxina y los inhibidores de fosfodiesterasa 5 en los ensayos de ICFE-C se han asociado con varios factores, incluyendo la alta heterogeneidad de la población de esta enfermedad y la disparidad de criterios de selección entre los estudios<sup>(129,130)</sup>.

La ICFE-C se ha relacionado con la presencia de hipertensión arterial, diabetes mellitus, obesidad, enfermedad coronaria e hipertrofia del ventrículo izquierdo, que también son muy comunes entre las personas mayores, pero hasta ahora no se habían relacionado con tanta fuerza con el depósito de amiloide y con Amiloidosis Senil. El presente estudio sugiere que en el 13% de los pacientes con ICFE-C en la población de ancianos, los depósitos significativos de amiloide cardíaco causarían el síndrome aunque el papel de una alta carga de comorbilidades en este grupo no puede ser excluido.

Estas comorbilidades (hipertensión arterial, diabetes melitus, insuficiencia renal crónica) pueden contribuir de forma independiente a la disfunción diastólica e incluso promover un estado pro-oxidación y por tanto acelerar el depósito de TTR como un fenómeno secundario. Esto podría explicar porque un número significativo de portadores de mutación en TTR permanecen asintomáticos hasta edades avanzadas cuando las comorbilidades cobran su peaje a nivel cardíaco.

Es poco probable que la digoxina, los IECA, los ARA II, la espironolactona u otros fármacos previamente investigados hubieran sido eficaces en este grupo de pacientes.

Recientemente, varios investigadores han defendido la adopción de los criterios ESC para el diagnóstico de IC con función sistólica conservada, que requieren una FEVI superior o igual al 50% y la identificación adicional de disfunción diastólica o, al

menos, restringir para futuros ensayos clínicos, sólo a los pacientes con FEVI  $\geq 50\%$  para evitar los pacientes con disfunción sistólica manifiesta<sup>(129,130)</sup>.

Aunque la población estudiada fue más mayor en comparación con estudios anteriores en IC con función sistólica conservada<sup>(129,130)</sup>, todos los pacientes incluidos en este estudio tenían diagnóstico de ICFE-C de forma inequívoca dada la aplicación de criterios de la ESC para su inclusión y, por tanto, la prevalencia de Amiloidosis Senil encontrada es aplicable a futuros ensayos clínicos en ICFE-C. Por otra parte, la superposición clínica entre los pacientes con gammagrafía positiva, altamente sugestiva de Amiloidosis cardíaca Senil y los pacientes con otras formas de ICFE-C fue muy alto y ninguna característica por sí misma permitió distinguir los pacientes con Amiloidosis Senil.

Los resultados de este estudio deben conducir a una mejor delimitación de los diferentes fenotipos de ICFE-C y sugieren que la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD podría ser incorporada como una herramienta de detección en las guías de IC.

#### *Amiloidosis cardíaca Senil.*

Los estudios de autopsia en sujetos de edad avanzada han demostrado que los depósitos de amiloide por transtiretina nativa están presentes en el ventrículo izquierdo en el 14-25% de los individuos en función de la metodología de selección y detección de amiloide empleada<sup>(68,136,142,143)</sup>.

Cuando el depósito miocárdico de transtiretina nativa es moderado o severo, se dice que existe Amiloidosis cardíaca senil. Los mecanismos por los cuales la TTR nativa se deposita en el corazón y cómo el amiloide produce el daño en los cardiomiocitos no se conoce por completo, pero estudios *in vitro* e *in vivo* sugieren efectos citotóxicos directos por TTR nativa y varias moléculas que actuarían como intermediarios en la vía del depósito de fibrillas de amiloide<sup>(16,17)</sup>.

La incidencia de Amiloidosis cardíaca Senil descrita en estudios de autopsia varía desde el 0,42% en los blancos no hispanos<sup>(144)</sup> hasta el 11,5% en pacientes hospitalizados mayores de 60 años de edad<sup>(142)</sup>. Cabe resaltar, que se ha demostrado que la Amiloidosis cardíaca por transtiretina es 4 veces más frecuente entre la raza negra en relación con la variante genética V122I, presente aproximadamente en el 3,5% de ellos<sup>(145)</sup>.

Recientemente, un estudio de autopsia ha examinado retrospectivamente 109 individuos con un diagnóstico previo de insuficiencia cardíaca y FEVI superior al 40%<sup>(136)</sup>. Este estudio encontró que 18 sujetos (17%) mostraron algún grado de depósito de TTR nativa a nivel del corazón y los depósitos eran consistentes con Amiloidosis Senil en 5 (5%) de los individuos<sup>(145)</sup>. La naturaleza retrospectiva del estudio, con sujetos reclutados a partir de diversos contextos clínicos durante un período de 25 años (con un sesgo obvio de selección en cuanto a la recogida de tejido cardíaco), la ausencia de una descripción electrocardiográfica detallada y datos ecocardiográficos en muchos casos y, más importante aún, una definición de IC con función sistólica conservada con un punto de corte de FEVI superior al 40% hacen que este estudio y el nuestro no sean directamente comparables. Por otra parte, este estudio se basa en los hallazgos histológicos frente a una técnica de imagen nuclear en el nuestro. Aunque puede existir un umbral de depósito a partir del cual la gammagrafía con DPD se vuelve positiva, no hay datos disponibles en la actualidad que correlacionen el grado de depósito de amiloide con el grado de captación de DPD. Sin embargo, ambos estudios, con sus diferencias, reflejan que la Amiloidosis cardíaca Senil es más frecuente en IC con función sistólica conservada de lo considerado hasta ahora.

Curiosamente, en el presente estudio, la proporción de mujeres con una gammagrafía con <sup>99m</sup>Tc-DPD positiva fue igual a la de hombres. Aunque no se puede excluir una infraestimación en el número de mujeres afectas en las series clásicas, nuestros resultados podrían explicarse por la mayor prevalencia de mujeres entre los pacientes con ICFE-C.

La Amiloidosis cardíaca Senil está probablemente infradiagnosticada dado que su diagnóstico definitivo requiere confirmación histológica mediante biopsia endomiocárdica<sup>(1)</sup> y la ausencia de un tratamiento específico para esta entidad ha llevado a que hasta ahora no se haya perseguido la demostración mediante biopsia.

Sin embargo, llegar a un correcto diagnóstico es útil con el fin de personalizar el tratamiento, buscar posibles complicaciones y determinar el pronóstico. Ciertos medicamentos como los antagonistas del calcio y la digoxina deben evitarse en los pacientes con Amiloidosis Senil por su potencial toxicidad, mientras que los IECA o los ARA II rara vez se toleran y los betabloqueantes se debe utilizar con precaución<sup>(1,55)</sup>.

Este *status quo* podría cambiar pronto por la irrupción de varios compuestos, con resultados preliminares prometedores y cuyos estudios de fase III, se encuentran en



desarrollo para hacer frente a la enfermedad a diferentes niveles: los oligonucleótidos antisentido<sup>(146)</sup> y los ARN de interferencia<sup>(116)</sup> para reducir la producción de TTR, moléculas oralmente biodisponibles para estabilizar la proteína TTR<sup>(117,118)</sup> y moléculas para mejorar el aclaramiento de los depósitos de amiloide<sup>(125)</sup>. Estos nuevos medicamentos tendrán que demostrar su eficacia en la reducción de la mortalidad y las hospitalizaciones cardiovasculares en estos pacientes.

Además, los recientes avances en técnicas de imagen y específicamente el desarrollo de la gammagrafía cardíaca con agentes difosfonato, que ha demostrado tener una afinidad específica por los depósitos de amiloide TTR cardíacos, facilitará el diagnóstico Amiloidosis cardíaca en los próximos años. Hasta ahora, la gammagrafía con <sup>99m</sup>Tc-DPD ha demostrado excelentes resultados en la diferenciación de Amiloidosis por TTR y amiloidosis AL<sup>(4,95,99)</sup> y en el diagnóstico de Amiloidosis cardíaca por TTR frente a otras miocardiopatías<sup>(101)</sup>. La gmmagrafía con <sup>99m</sup>Tc-DPD no está disponible en Estados Unidos, pero resultados similares se han descrito con otros radiotrazadores como el <sup>99m</sup>Tc-pirofosfato (PYP)<sup>(32)</sup>.

Además, el *strain* longitudinal mediante ecocardiografía por *speckle-tracking* ha mostrado una alta sensibilidad y especificidad para diferenciar la amiloidosis de otros tipos de miocardiopatías<sup>(45,78)</sup>. Esta técnica podría ser útil para diagnosticar Amiloidosis Senil y otras formas de amiloidosis cardíaca, aunque la calidad de la imagen puede ser una limitación en una cohorte de pacientes ancianos. En nuestra cohorte, 3 de los pacientes con gammagrafía DPD positiva y sin confirmación histológica se sometieron a ecocardiograma con strain y todos ellos mostraron un patrón de *strain* compatible con amiloidosis.

Sobre la base de estudios previos, la gammagrafía con <sup>99m</sup>Tc-DPD se ha incorporado recientemente a las guías de MCH de la ESC como una prueba recomendada para excluir Amiloidosis cardíaca por TTR<sup>(147)</sup>. La precisión diagnóstica de la prueba no ha sido evaluada en poblaciones no seleccionadas como pacientes con IC con función sistólica conservada. Sin embargo, un reciente estudio ha evaluado la prevalencia de Amiloidosis cardíaca por TTR en una población no seleccionada de pacientes que se sometieron a una gammagrafía con <sup>99m</sup>Tc-DPD por indicaciones oncológicas y reumatológicas<sup>(102)</sup>. En este estudio, todos los pacientes con gamagrafía positiva que se sometieron a BEM mostraron Amiloidosis cardiaca por transtiretina y aquellos pacientes que no se sometieron a BEM mostraron síntomas y signos clínicos, electrocardiográficos y ecocardiográficos altamente sugestivos de la enfermedad<sup>(101)</sup>. Más estudios son necesarios para abordar la precisión diagnóstica de la gammagrafía

con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD en diversos contextos clínicos, pero, mientras tanto, la evidencia disponible sugiere que una captación significativa de  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD en combinación con hipertrofia ventricular izquierda no justificada por otras causas de sobrecarga debe ser considerada como altamente sugestiva de Amiloidosis cardíaca por TTR.

#### *Limitaciones.*

La biopsia endomiocárdica con inmunohistoquímica y la espectrometría de masas siguen siendo el *gold standard* para el diagnóstico definitivo de Amiloidosis cardíaca por transtiretina. En nuestro estudio, la confirmación histológica de Amiloidosis cardíaca por TTR no fue obtenida en todos los casos. La BEM rara vez fue solicitada por los médicos responsables de esta población de pacientes, basándose en su edad, situación funcional y la ausencia de un tratamiento específico que pudiera mejorar el pronóstico. Por lo tanto, el diagnóstico de Amiloidosis cardíaca Senil se infirió en el contexto de afectación cardíaca, una captación moderada o severa biventricular en gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD y la ausencia de mutación en el gen TTR.

En el presente trabajo se ha utilizado la definición ESC para Insuficiencia cardíaca con FEVI conservada. El número de pacientes con diagnóstico de Amiloidosis Senil podría haber variado si se hubieran utilizado los criterios de ICFE-C del American College of Cardiology (ACC) (FEVI > 45%)<sup>(127)</sup>, puesto que se conoce que un número significativo de pacientes con Amiloidosis Senil pueden presentar disfunción ventricular leve.

Por otra parte, la precisión de la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD para el diagnóstico de Amiloidosis cardíaca Senil en el contexto de la IC no ha sido abordada en estudios previos. El presente estudio no proporciona la sensibilidad y especificidad de  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD en este contexto. Además, la sensibilidad y especificidad de DPD para la detección de Amiloidosis Senil en etapas iniciales son también desconocidas y por lo tanto el porcentaje de pacientes con Amiloidosis Senil podrían estar infraestimado. De forma adicional, el análisis de la afectación cardíaca por gammagrafía con DPD se ha basado en un análisis semi-cuantitativo. Se desconoce cuál sería el resultado si se hubiese utilizado una técnica cuantitativa.

A pesar de la alta sensibilidad y especificidad de la gammagrafía con DPD para identificar amiloide TTR, la amiloidosis AL no fue sistemáticamente excluida en esta cohorte de pacientes.

Ciertos trastornos hereditarios poco frecuentes que causan depósitos de amiloide diferentes a los de transtiretina también pueden mostrar una captación positiva en la gammagrafía con DPD, como la amiloidosis por ApoA1<sup>(34)</sup>. Aunque ésta es una enfermedad muy poco frecuente, no se realizó secuenciación del gen ApoA1 por lo que esta entidad no queda excluida por completo.

Por último, nuestro estudio está limitado por su naturaleza unicéntrica y el diseño del protocolo. El sesgo de supervivencia y referencia no se pueden excluir por completo.

## CAPÍTULO 3

---

### **CORRELACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN EXTRACELULAR POR RESONANCIA MAGNÉTICA CARDÍACA CON LA PROGRESIÓN NEUROLÓGICA EN AMILOIDOSIS HEREDITARIA POR TRANSTIRETINA**

### **CAPÍTULO 3. CORRELACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN EXTRACELULAR POR RESONANCIA MAGNÉTICA CARDÍACA CON LA PROGRESIÓN NEUROLÓGICA EN AMILOIDOSIS HEREDITARIA POR TRANSTIRETINA.**

#### **3.1. OBJETIVOS.**

1. Conocer si el aumento de volumen extracelular (VEC) permite la identificación de amiloidosis cardíaca en pacientes con Amiloidosis hereditaria por transtiretina.
2. Determinar si el VEC se correlaciona con el grado de deterioro neurológico causado por los depósitos de amiloide a nivel extracardíaco en la Amiloidosis hereditaria por transtiretina.

#### **3.2. HIPÓTESIS.**

El VEC refleja la cantidad de depósito de amiloide de TTR en el miocardio y podría servir como una herramienta para diagnosticar la amiloidosis cardíaca y monitorizar su progresión. Además, VEC podría reflejar la cantidad de depósito amiloide presente en otros tejidos.

#### **3.3. MATERIAL Y MÉTODOS.**

##### *Población de estudio.*

Tras la aprobación por el Comité Ético del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, 31 pacientes, procedentes de 5 centros españoles, portadores de mutaciones en el gen TTR fueron incluidos en el estudio. Todos los participantes firmaron consentimiento informado por escrito y se les realizó una resonancia magnética cardíaca.

Los criterios de inclusión incluyeron la prestación de consentimiento informado y la posibilidad de someterse a una exploración de RMC completa con contraste, que requiere una tasa de filtración glomerular superior a 30 ml/min/1.72m<sup>2</sup> y la ausencia de

otras contraindicaciones para resonancia magnética como ser portador de dispositivos cardíacos (marcapasos o desfibriladores).

Los criterios de exclusión comprendieron contraindicaciones formales para la realización de resonancia magnética cardíaca, imposibilidad para su realización (por problemas de tamaño o claustrofobia, por ejemplo), infarto de miocardio previo y la negativa a firmar el consentimiento informado.

#### *Evaluación clínica.*

Todos los participantes se sometieron a una detallada historia clínica, exploración física y se les extrajo una muestra de sangre antes de la realización de la RMC. En dicho análisis se determinaron Creatinina, albúmina, hematocrito y niveles de NT-proBNP. Se evaluó también la presencia de hipotensión ortostática antes de la realización de la prueba según los criterios recomendados<sup>(148)</sup>.

La evaluación neurológica fue realizada el mismo día de la RMC por un médico entrenado e incluyó las siguientes pruebas:

- Escala de deterioro neurológico en miembros inferiores (NIS-LL).
- Cuestionario de calidad de vida Norfolk en Neuropatía Diabética (Norfolk QOL-DN)
- Índice de Karnofsky.

Estas escalas fueron seleccionadas debido a su baja complejidad y su uso previo en ensayos clínicos de nuevos fármacos en FAP<sup>(117,121)</sup>.

NIS-LL (puntuación de 0 a 88)<sup>(149)</sup> es la suma de la función motora, sensorial (vibración, posición lineal segmentada y sensación de pinchazo en el dedo índice) y los reflejos en los miembros inferiores (afectados inicialmente en la Amiloidosis hereditaria por transtiretina). Un paciente sin anomalías neurológicas puntuaría 0.

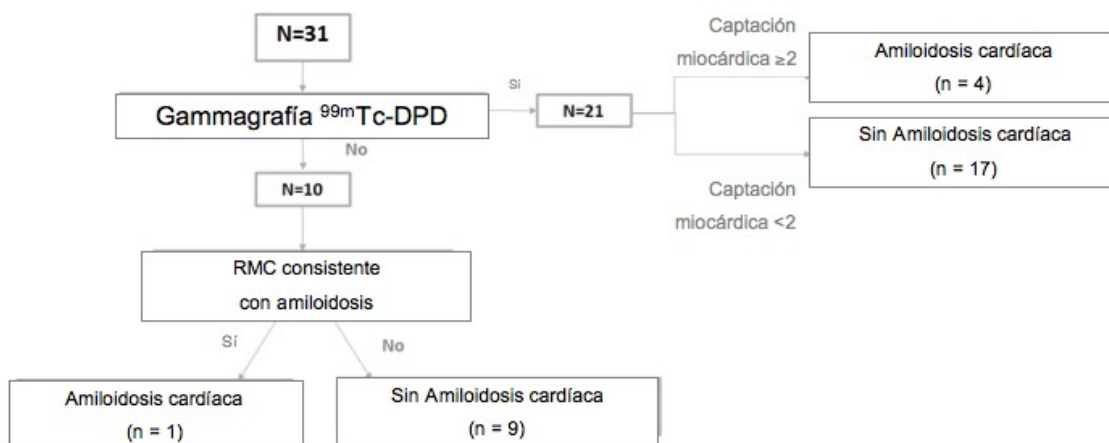
Norfolk QOL-DN es un cuestionario de 35 ítems (47 en la versión española), dispuestos temáticamente en cinco dominios: funcionamiento físico, síntomas de neuropatía de fibra gruesa, actividades de la vida diaria, síntomas de neuropatía de fibra fina y neuropatía autonómica<sup>(150)</sup>. La puntuación de la calidad de vida (TQOL) es la suma de todos los dominios con un rango de 0 (mejor calidad de vida) a 138 (peor calidad de vida).

El Índice de Karnofsky refleja la salud global del paciente (normal de 100 a 0)<sup>(151)</sup>.

La evaluación neurológica no pudo ser valorada en 2 pacientes debido a la coexistencia de otras condiciones que afectaban a sus extremidades inferiores (poliomielitis y espondiloartrosis con radiculopatía).

Se definió amiloidosis cardíaca como la presencia de captación intensa y biventricular (grados 2 ó 3)<sup>(95)</sup> en la gammagrafía con <sup>99m</sup>Tc-DPD (n = 21). En los pacientes procedentes de centros donde la gammagrafía no estaba disponible (n = 10), la miocardiopatía se consideró en presencia de hipertrofia ventricular izquierda (en ausencia de hipertensión arterial y enfermedad valvular) en la RMC, además de realce típico de amiloidosis, con confirmación por biopsia extracardíaca<sup>(6,45,55)</sup> (*Ilustración 38*).

*Ilustración 38. Algoritmo diagnóstico de amiloidosis cardíaca y diagrama de flujo.*



Los pacientes se clasificaron en tres grupos según su estadio clínico:

- Portadores asintomáticos de la mutación (n = 5).
- Deterioro neurológico sin afectación cardíaca (n = 21).
- Amiloidosis cardíaca (n = 5).

Todos los pacientes con amiloidosis cardíaca presentaban a su vez deterioro neurológico.

### *Protocolo de Resonancia magnética cardíaca (RMC).*

Todos los pacientes fueron sometidos a RMC estándar en la Unidad de Imagen Cardíaca Avanzada del CNIC en un escáner clínico 3-T (Achieva, Philips Healthcare, Best, Holanda).

Se realizó un estudio morfológico y de realce tardío estándar<sup>(152)</sup>. Antes de la administración de contraste, se obtuvieron secuencias de mapeo T1-Locker Inversion Recuperación Modificado (MOLLI) en eje corto a nivel basal y medio y en 4-cámaras. Se administró un bolo de contraste de gadolinio (gadopentetato de dimeglumina, Magnevist, Bayer, Berlín, Alemania) de 0,1 mmol/kg y se adquirieron imágenes de realce tardío estándar 15 minutos más tarde. A continuación, se administró Gd-DTPA a través de un sistema de infusión a una velocidad de 0,00115 mmol/kg/min durante al menos 20 minutos. Una vez completada la infusión, se llevó a cabo la adquisición de imágenes T1-MOLLI.

### *Análisis de las imágenes de RMC.*

Todas las imágenes y mapas de RMC fueron analizados posteriormente en una plataforma de trabajo de Philips (Philips, Best, Holanda). Se evaluaron el grosor ventricular izquierdo y derecho, los volúmenes telediastólico y telesistólico del ventrículo izquierdo, la función sistólica, la masa ventricular izquierda (mediante regla de Simpson) y el volumen de la aurícula izquierda (mediante método biplano). Se consideró el diagnóstico de Amiloidosis cardíaca si la RMC mostraba hipertrofia ventricular izquierda con más de 12 mm.<sup>(51,72)</sup> y un patrón subendocárdico global o difuso de realce tardío<sup>(79,82)</sup>.

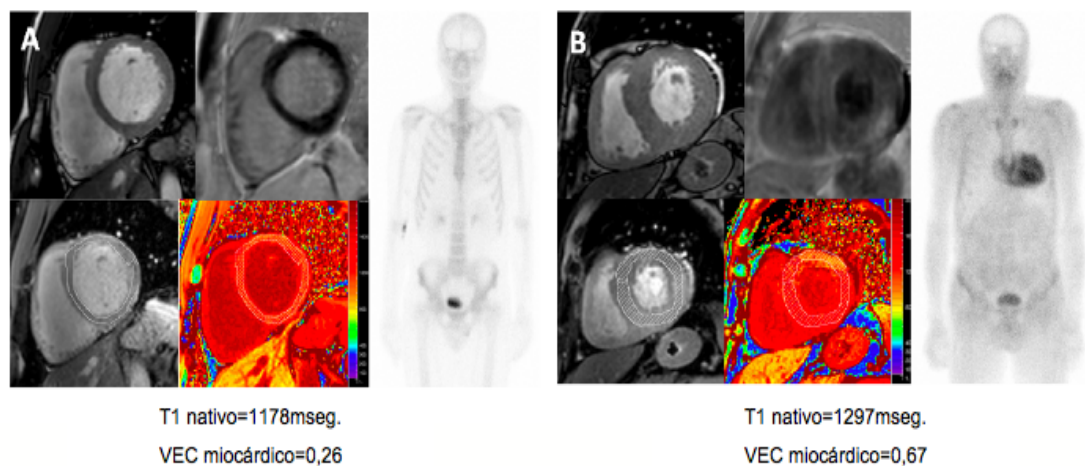
### *Cálculo de VEC.*

Se generaron mapas T1 por ajuste no lineal de la intensidad de la señal según el modelo previamente propuesto<sup>(153)</sup>. Esos mapas T1 fueron cuantificados a través de una aplicación de software, incluyendo los valores medios de T1 $\pm$  2DS mediante un ROI colocado en el tabique interventricular. El valor de T1 utilizado fue el promedio de las medidas T1 a nivel medio y basal en el eje corto (ROI que incluía el miocardio completo). VEC se calculó según la fórmula previamente publicada<sup>(86)</sup>.



Ejemplos del valor de VEC en un portador de la mutación asintomático y en un paciente con amiloidosis cardíaca se muestran en la *Ilustración 39*.

*Ilustración 39. (A) Hallazgos en RMC y gammagrafía en portador asintomático de mutación y (B) en paciente con amiloidosis cardíaca.*



#### *Análisis estadístico.*

Los datos categóricos se expresaron como porcentajes y se compararon mediante la prueba exacta de Fisher.

Las variables de distribución normal se expresaron como la media con la desviación estándar, mientras que las variables no normales, se expresan como mediana con el rango intercuartílico (RIC). Para el análisis estadístico, se utilizaron *t de student* y *U de Mann-Whitney* no paramétricos para la comparación de los dos grupos.

La correlación entre variables se evaluó a través de Pearson o el coeficiente Rho de correlación de Spearman. Para evaluar la correlación de variables continuas con el estadio clínico se utilizó ANOVA o análisis de Kruskal-Wallis. La significación estadística se definió como  $p < 0,05$ . El análisis se realizó utilizando el paquete SPSS, versión 20.0.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EE.UU.).

### 3.4. RESULTADOS.

Se incluyeron 31 pacientes con diagnóstico genético de Amiloidosis hereditaria por transtiretina, con una edad media de  $49 \pm 12$  años (rango 34-71) y siendo 19 de ellos varones (61%).

La mutación más frecuente fue Val30Met ( $n = 26$ , 84%). Otras mutaciones incluían delV122 ( $n = 3$ , 10%), Glu89Gln ( $n = 1$ , 3%) y Glu89Lys ( $n = 1$ , 3%).

Veintiún pacientes (68%) procedían de las dos regiones endémicas españolas, con mutación Val30Met: Huelva ( $n = 14$ ) y Mallorca ( $n = 7$ ). Cinco pacientes (4 varones), con una edad media de  $40 \pm 6$  años, fueron considerados portadores asintomáticos, definidos como individuos sin evidencia de enfermedad. Las mutaciones de los portadores genéticos fueron delV122 ( $n = 3$ ), Glu89Lys ( $n = 1$ ) y Val30Met ( $n = 1$ ).

Trece pacientes (42%) se habían sometido a trasplante hepático y ningún paciente se encontraba en tratamiento con Tafamidis cuando se realizó el estudio de RMC.

Veintiún pacientes (66%) mostraron signos de afectación neurológica aislada. La hipotensión ortostática se documentó en 9 pacientes (33%) y 12 pacientes (39%) presentaban alteraciones gastrointestinales (estreñimiento/diarrea). Ningún paciente reportó infecciones del tracto urinario.

Cinco pacientes (4 varones) con una edad media de  $65 \pm 8$  años se clasificaron como afectados de amiloidosis cardíaca (4 por captación en la gammagrafía y 1 por RMC) (*Ilustración 37*). Los pacientes con amiloidosis cardíaca eran portadores de mutaciones Val30Met ( $n = 4$ ) y Glu89Gln ( $n = 1$ ). Todos los pacientes con amiloidosis cardíaca mostraron también algún grado de afectación neurológica.

Un resumen de las características clínicas y los hallazgos de RMC se presenta en la *Tabla 17*.

Tabla 17. Características clínicas, neurológicas y hallazgos de resonancia magnética cardíaca.

	<b>Población de estudio (n=31)</b>	<b>Sin amiloidosis cardíaca (n=26)</b>	<b>Amiloidosis cardíaca (n=5)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Género masculino</b>	19 (61%)	15 (58%)	4 (80%)	0,624
<b>Edad, años</b>	49 (12)	46 (11)	65 (8)	0,001
<b>Mutación Val30Met</b>	26 (84%)	22 (85%)	4 (80%)	1
<b>Región endémica</b>	21 (68%)	19 (73%)	2 (40%)	0,296
<b>Hipertensión arterial</b>	9 (29%)	6 (23%)	3 (60%)	0,131
<b>Diabetes Mellitus</b>	1 (3%)	1 (4%)	0 (0%)	1
<b>Duración síntomas, meses</b>	50 (8-105)	52 (8-105)	19 (6-30)	0,584
<b>Alteraciones GI</b>	12 (39%)	10 (38%)	2 (40%)	1
<b>Hipotensión ortostática</b>	9 (30%)	5 (20%)	4 (80%)	0,019
<b>Trasplante hepático</b>	13 (42%)	12 (46%)	1 (20%)	0,368
<b>IMCm, kg·g/L·m<sup>2</sup></b>	1074 (199)	1071 (209)	1086 (175)	0,884
<b>CCr, mL/min</b>	105 (30)	111 (29)	77 (12)	0,016
<b>NTproBNP, pg/mL</b>	113 (36-203)	49 (30-147)	873 (387-1285)	0.001
<b>Escalas Neurológicas</b>				
<b>NIS-LL</b>	4 (0-11)	3 (0-8)	23 (7-30)	0,015
<b>Norfolk QOL</b>	34 (10-50)	20 (0-40)	50 (34-51)	0,052
<b>Karnofsky</b>	90 (80-100)	90 (90-100)	80 (60-90)	0,035
<b>Parámetros Resonancia Magnética cardíaca</b>				
<b>FEVI, %</b>	62 (5)	63 (4)	58 (7)	0,242
<b>DTDVI<sub>i</sub>, mL/m<sup>2</sup></b>	63 (13)	64 (13)	60 (8)	0,545
<b>DTSVI<sub>i</sub>, mL/m<sup>2</sup></b>	24 (6)	24 (6)	25 (5)	0,715
<b>V AI<sub>i</sub>, mL/m<sup>2</sup></b>	36 (9)	35 (9)	44 (9)	0,047
<b>Masa VI<sub>i</sub>, g/m<sup>2</sup></b>	75 (26)	67 (16)	121 (23)	<0,001
<b>Grosor</b>	12 (4)	11 (2)	19 (3)	0,003

<b>máximo VI,</b> mm				
<b>Grosor</b> <b>máximo</b> <b>VD, mm</b>	3.7 (1)	3.5 (0,6)	5.0 (1,6)	0,095
<b>T1 nativo</b>	1197 (54)	1184 (47)	1265 (31)	0,001
<b>VEC</b>	0,321 (0,095)	0,289 (0,035)	0,490 (0,131)	0,026

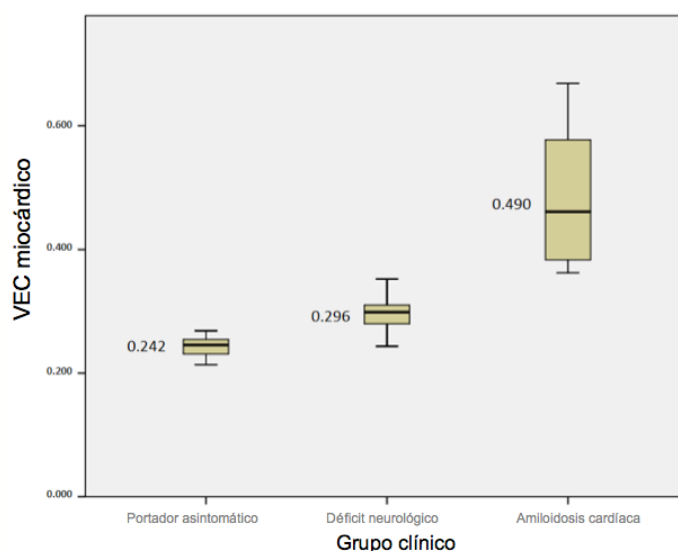
Los datos se presentan como media±desviación estándar o mediana (RIC).

GI indica Gastrointestinal; IMCm, Índice de masa corporal modificado; CCr, Aclaramiento de creatinina; FEVI, Fracción de eyección de ventrículo izquierdo; DTDVI, Diámetro telediastólico de ventrículo izquierdo; DTSVI, Diámetro telesistólico de ventrículo izquierdo; VAI, Volumen de aurícula izquierda indexada por superficie corporal; Masa VI, Masa de ventrículo izquierdo indexada; VI, Ventrículo izquierdo; VD, Ventrículo derecho; VEC, Volumen extracelular.

#### VEC y características clínicas.

Los valores de VEC se encontraban aumentados a lo largo de todos los grupos clínicos:  $0,242 \pm 0,02$ ,  $0,296 \pm 0,027$  y  $0,490 \pm 0,130$  para los portadores asintomáticos de mutaciones, para los que presentaban sólo síntomas neurológicos y para los diagnosticados de AC, respectivamente ( $p < 0,001$ ) (Ilustración 40).

Ilustración 40. VEC miocárdico según estadio de Amiloidosis hereditaria por transtiretina.



Aunque existe una correlación directa entre VEC y la edad (Tabla 18), no se encontraron diferencias en la media de VEC según el género (masculino  $0,325 \pm 0,103$  vs.  $0,316 \pm 0,085$  en mujeres;  $p=0,794$ ), los factores de riesgo cardiovascular

(hipertensión arterial  $0,357 \pm 0,125$  vs. sin hipertensión  $0,307 \pm 0,078$ ;  $p=0,184$ ; diabetes mellitus  $0,305 \pm 0,00$  vs. sin diabetes  $0,322 \pm 0,097$ ;  $p=0,864$ ) o el tipo de mutación (V30M  $0,324 \pm 0,084$  frente a otras mutaciones  $0,309 \pm 0,151$ ,  $p=0,752$ ).

#### *Parámetros cardíacos y VEC.*

VEC se correlaciona con varios parámetros cardíacos (*Tabla 18*). VEC se correlaciona directamente con la masa indexada del ventrículo izquierdo, el grosor de pared tanto del ventrículo izquierdo como del ventrículo derecho y el área indexada de la aurícula izquierda y el NT-proBNP. VEC también correlaciona inversamente con la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (*Tabla 18*). Sin embargo, la correlación más fuerte se produjo con el NT-proBNP ( $R_s = 0,820$ ;  $p < 0,001$ ).

*Tabla 18. Correlaciones de VEC con diversos parámetros de estudio.*

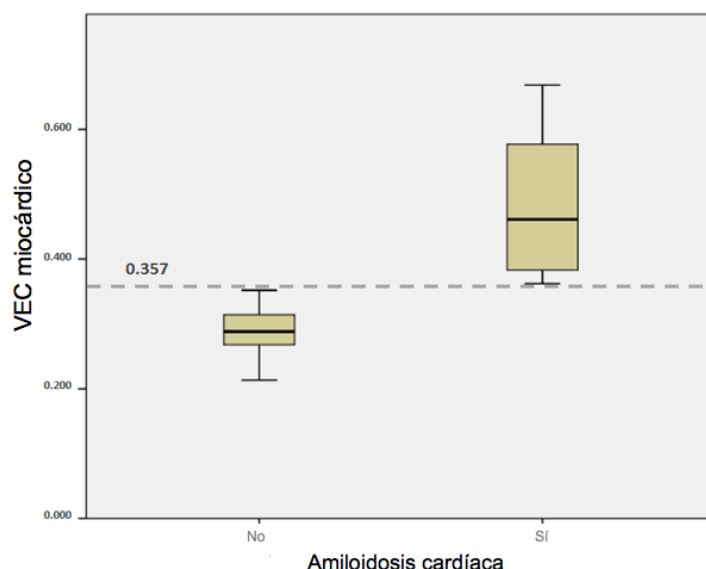
VEC	R	Valor p
Edad	0,467	<0,01
IMCm	-0,185	0,364
Duración síntomas*	0,366	<0,05
Grosor máximo VI	0,621	<0,01
Grosor máximo VD	0,440	<0,05
Masa VI <sub>i</sub>	0,685	<0,01
DTDVI <sub>i</sub>	0,018	0,925
DTSVI <sub>i</sub>	0,143	0,442
FEVI	-0,378	<0,05
Área AI <sub>i</sub>	0,592	<0,01
Volúmen AI <sub>i</sub>	0,418	<0,05
NTproBNP*	0,820	<0,01
NIS MMII*	0,604	<0,01
Norfolk QOL*	0,529	<0,01
Karnofsky*	-0,517	<0,01

*R* representa el coeficiente de correlación de Pearson excepto en variables con \* en las que se aplicó el coeficiente Rho de Spearman.

*IMCm* indica Índice de masa corporal modificado; *VI*, Ventrículo izquierdo; *VD*, Ventrículo derecho; *DTDVI*, Diámetro telediastólico de ventrículo izquierdo; *DTSVI*, Diámetro telesistólico de ventrículo izquierdo; *AI<sub>i</sub>*, Aurícula izquierda indexada por superficie corporal; *MMII*, Miembros inferiores.

Todos los pacientes con AC mostraron un aumento de los valores de VEC. La media de VEC se incrementó en pacientes con AC frente a los pacientes sin AC ( $0,490 \pm 0,131$  vs.  $0,289 \pm 0,035$ ;  $p=0,026$ ). Además, el valor de corte de VEC = 0,357 calculado por curva ROC, fue diagnóstico de AC con una sensibilidad y una especificidad del 100% ( $p < 0,001$ ) (Ilustración 41).

Ilustración 41. Precisión de VEC en el diagnóstico de amiloidosis cardíaca.



#### *VEC y manifestaciones neurológicas.*

Las puntuaciones en NIS-LL, Norfolk y Karnofsky se correlacionaron con VEC (Tabla 18), mientras que T1 nativo sólo se correlacionó con NIS-LL ( $R_s = 0,403$ ;  $p = 0,030$ ). El NT-proBNP también se correlacionó con la puntuación en NIS-LL ( $R_s = 0,720$ ;  $p < 0,01$ ); Norfolk-QOL ( $R_s = 0,616$ ;  $p < 0,01$ ) y Karnofsky ( $R_s = -0,708$ ;  $p < 0,01$ ). También se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las puntuaciones NIS-LL y Karnofsky entre los grupos clínicos con peores puntuaciones entre los de afectación cardíaca (Tabla 18).

### 3.5. DISCUSIÓN.

Este estudio es el primero en evaluar el valor de VEC determinado por técnicas de mapeo T1 de RMC para el diagnóstico de amiloidosis cardíaca en pacientes con Amiloidosis hereditaria por transtiretina. Este estudio muestra que VEC aumenta entre los pacientes con FAP y amiloidosis cardíaca y que VEC se incrementa en todo el espectro clínico de la enfermedad. Por otra parte, el estudio muestra que VEC se correlaciona con manifestaciones neurológicas de la enfermedad. En general, los resultados sugieren que VEC podría convertirse en una herramienta útil para diagnosticar amiloidosis cardíaca, realizar el seguimiento del curso de la enfermedad y determinar el efecto del tratamiento.

La amiloidosis es el paradigma de las enfermedades por depósito del espacio extracelular<sup>(1,6,12,55)</sup>. El depósito de fibrillas de amiloide a nivel extracelular provoca daño celular progresivo y conduce a una serie de síntomas, dependiendo de los órganos afectados<sup>(1,6,12,51,55)</sup>. En FAP, los depósitos de amiloide aumentan progresivamente y afecta principalmente a los nervios y al corazón<sup>(1,6,12,51,55)</sup>. Mientras los síntomas neurológicos suelen dominar la clínica, la participación cardíaca determina con frecuencia el pronóstico<sup>(1,6,55)</sup>.

Actualmente, se recomienda el tratamiento farmacológico o el trasplante hepático cuando los primeros signos y síntomas de la enfermedad aparecen<sup>(37,154)</sup>. El seguimiento de los portadores de mutación en TTR y de los pacientes con manifestaciones de la enfermedad incluye una evaluación neurológica completa y una evaluación cardíaca<sup>(3,37,154)</sup>. Si se sospecha afectación cardíaca, las técnicas de imagen cardíaca no invasivas incluyendo la RMC y la gammagrafía con agentes de difosfonato son por lo general las preferidas<sup>(4,45,51,55)</sup>. Las biopsias cardíacas o de nervio periférico pueden ser empleadas para confirmar el depósito de amiloide<sup>(1,6,55)</sup>, pero no se pueden utilizar como método de seguimiento debido a la imposibilidad de repetir las biopsias de forma precisa en el mismo sitio. En principio, el mismo fragmento de tejido sólo se puede obtener una vez.

Las pruebas cardiológicas y neurológicas utilizadas en el seguimiento de FAP han demostrado varias limitaciones. Por un lado, las pruebas neurológicas confían en la capacidad de los médicos para recopilar datos que no son específicos de un solo tipo de neuropatía<sup>(155)</sup>. Por otro lado, RMC y gammagrafía proporcionan un sí / no a la presencia de la enfermedad por amiloide a nivel cardíaco, pero no proporcionan un

valor objetivo y preciso de la carga de amiloide que pudiera ser comparado a lo largo del tiempo.

Una técnica no invasiva que permite la detección temprana de los depósitos de amiloide y estima la carga de amiloide en los tejidos sería particularmente útil en FAP. Esta técnica permitiría el seguimiento de los depósitos de amiloide y podría ser útil para controlar el efecto de los tratamientos emergentes.

El cálculo de VEC y las técnicas de mapeo T1 mediante RMC tienen el potencial de convertirse en el método de elección para la cuantificación objetiva de la carga de amiloide en FAP.

El mapeo T1 ya ha demostrado su utilidad en el diagnóstico diferencial de la hipertrofia ventricular izquierda. Tanto los valores nativos de T1 como el VEC se han reportado superiores en los pacientes con AC en comparación con controles sanos, pacientes con MCH y aquellos con EAo severa<sup>(87)</sup>. Por otra parte, un estudio reciente ha demostrado que los valores de T1 nativo son más altos en la amiloidosis cardíaca AL en comparación con AC por transtiretina (principalmente Senil)<sup>(85)</sup>.

El presente trabajo proporciona los primeros datos disponibles de los valores de VEC en pacientes con FAP y muestra que los pacientes con FAP y amiloidosis cardíaca presentan valores significativamente aumentados de VEC. Además, un valor de VEC de 0,357 fue diagnóstico de AC con una sensibilidad y especificidad del 100% en el estudio. Hasta la fecha, VEC se había estudiado principalmente en pacientes con amiloidosis cardíaca AL<sup>(88)</sup>.

Los primeros valores de VEC en afección cardíaca en amiloidosis fueron publicados por Sado et al. en un trabajo con 27 pacientes con amiloidosis cardíaca AL utilizando una resonancia cardíaca de 1,5T y una secuencia con una recuperación de la inversión rápida de bajo ángulo de disparo único (FLASH IR) a tiempos de inversión crecientes de 140 a 900 milisegundos para permitir la cuantificación de T1<sup>(85)</sup>. Este trabajo mostró una diferencia dramática en el VEC entre los pacientes con amiloidosis cardíaca y pacientes con otras patologías cardíacas (miocardiopatía dilatada, MCH y EAo)<sup>(87)</sup>. Más tarde, otros grupos<sup>(84,85,88,92)</sup> han publicado su experiencia principalmente en amiloidosis AL y también con una resonancia de 1,5T. Los valores de VEC publicados oscilaron entre  $0,44 \pm 0,12$  y  $0,46 \pm 0,07$ . Algunos de los datos publicados para amiloidosis AL fueron reportados en base a los valores T1, mostrando un tiempo T1 precontraste de  $1,140 \pm 6,139$ <sup>(84)</sup>,  $1,130 \pm 6,837$ <sup>(85)</sup> y  $1,080 \pm 8,740$ <sup>(92)</sup> en un equipo 1,5T con una secuencia ShMOLLI. Sólo un grupo ha informado hasta el momento de



su experiencia en amiloidosis cardíaca por TTR aunque sólo reportaron los valores de T1 precontraste<sup>(85)</sup>. En este estudio, un grupo de 85 pacientes con ATTR (35 con ATTR hereditaria) mostró un tiempo T1 nativo de  $1,097 \pm 43$  y los datos de VEC no se aportaron<sup>(85)</sup>. En comparación con los datos anteriores de VEC, nuestros resultados de VEC en pacientes con FAP y afectación cardíaca ( $0,490 \pm 0,131$ ) están de acuerdo con las publicaciones anteriores en amiloidosis cardíaca. Sin embargo, no se dispone aún de datos sobre valores de T1 nativo en resonancia 3-T por lo que nuestros resultados ( $1265 \pm 31$  ms) no son comparables con los tiempos T1 precontraste previamente publicados.

La afectación cardíaca determina el pronóstico de FAP cuando está presente debido a su rápida progresión<sup>(58)</sup>. Si la afectación cardíaca ya está presente, podría progresar aún después de un trasplante hepático debido a la continua deposición de TTR nativa<sup>(156)</sup>. A pesar de los avances en técnicas no invasivas, el diagnóstico de AC sigue siendo un reto y las características fácilmente reconocibles se encuentran a menudo en fases avanzada<sup>(51,55)</sup>. Si nuestros resultados se confirman en estudios adicionales, VEC podría ser de gran utilidad para diagnosticar la afectación cardíaca precoz en FAP y podría ser beneficiosa en la evaluación de nuevas terapias y de igual modo, podría hacerse extensivo en Amiloidosis Senil. El hecho de que VEC refleje con precisión la afectación cardíaca se apoya además en que se correlaciona con varios parámetros cardíacos y muy fuertemente con los valores de NTproBNP ( $R_s=0,820$ ;  $p < 0,001$ ). El NT-proBNP se ha demostrado como un factor pronóstico importante en amiloidosis AL<sup>(157,158)</sup> pero hay datos limitados en ATTR<sup>(58,159,160)</sup>. La evidencia reciente sugiere que el NT-proBNP y el cambio en la masa del ventrículo izquierdo son los marcadores de progresión de la enfermedad en con FAP con fenotipo cardíaco predominante<sup>(97,161)</sup>.

Por último, nuestro estudio ha demostrado que VEC se correlaciona con la afectación neurológica y que avanza en todo el espectro de la enfermedad. Estos hallazgos apoyan la idea de que el seguimiento de la carga de amiloide mediante VEC podría ser posible como ya se ha sugerido a partir de estudios en modelos murinos<sup>(162)</sup>. Por otra parte, VEC se erige como una herramienta prometedora para la investigación humana. VEC podría ser utilizado como un marcador de la respuesta a nuevos compuestos, facilitando la realización de ensayos clínicos en una enfermedad rara. Desde un punto de vista clínico, VEC podría ser utilizado para monitorizar la respuesta de fármacos y para ayudar en la toma de decisiones con respecto al momento idóneo de trasplante hepático, aunque la sencilla cuantificación de la carga de amiloide puede

no reflejar el único mecanismo patológico de la amiloidosis. Por otra parte, VEC podría conducir a un nuevo enfoque en la estrategia de realización de las BEM en los pacientes en los que se sospecha AC. Teniendo en cuenta el carácter irregular de la enfermedad, VEC podría guiar el procedimiento a un segmento ventricular específico en función de sus valores. Esta estrategia podría aumentar el rendimiento de la BEM y reducir el error de muestreo de dicha biopsia.

### *Limitaciones.*

Este estudio está limitado por su modesto tamaño muestral, a pesar de su carácter multicéntrico. FAP es una rara enfermedad y los trastornos de la conducción que requieren el implante de marcapasos o la nefropatía no son complicaciones infrecuentes, lo que limita los estudios de investigación con RMC. Se necesitan más estudios con series más amplias de pacientes con diversas mutaciones (84% de los pacientes eran Val30Met) para confirmar los hallazgos.

Una proporción significativa de la cohorte fue sometida a trasplante hepático. El potencial impacto de este tratamiento en la afectación cardíaca requiere de mayor investigación en futuros estudios.

De forma adicional, dado que los valores se han obtenido en un equipo 3T, se requiere evidencia complementaria para su validación en 3T. Por último, el punto de corte de VEC hallado para el diagnóstico de afectación cardíaca debe ser validado en posteriores estudios prospectivos.

# CAPÍTULO 4

---

## CONCLUSIONES

#### 4. CONCLUSIONES.

1. La Amiloidosis Senil es una enfermedad infradiagnosticada que origina un número significativo de casos de Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección conservada en pacientes mayores de 60 años.
2. Un protocolo basado en la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD es seguro para detectar Amiloidosis Senil entre pacientes ancianos ingresados por ICFE-C.
3. El elevado número de pacientes con ICFE-C causados por Amiloidosis Senil sugiere que esta entidad debe ser considerada de forma rutinaria en todos los pacientes con ICFE-C.
4. Nuevos fármacos antiamiloides deben ser evaluados en este grupo de pacientes que en la actualidad carecen de un tratamiento específico.
5. El VEC mediante RMC permite la identificación de AC y se correlaciona con el grado de afectación neurológica en pacientes con FAP.
6. El VEC aumenta en todo el espectro clínico de la FAP.
7. Esta técnica no invasiva podría convertirse en una herramienta muy útil para el diagnóstico precoz de la afectación cardíaca y para cuantificar los depósitos amiloides a nivel cardíaco y extracardíaco en la FAP.

# CAPÍTULO 5

---

## RESÚMEN

## CAPÍTULO 5. RESÚMEN.

### *Introducción y antecedentes.*

La amiloidosis cardíaca es una enfermedad que se debe al depósito de diversas proteínas que se tiñen característicamente con Rojo Congo. Sólo 4 precursores proteicos producen afectación amiloidea cardíaca significativa. Entre ellas, la Transtiretina (TTR) puede dar lugar a 2 formas: La Amiloidosis Hereditaria TTR (o Polineuropatía Amiloide Familiar), por mutación en el gen TTR y la Amiloidosis Senil.

La TTR es un tetrámero que se sintetiza principalmente a nivel hepático y que se encarga del transporte de tiroxina y de proteína ligada al retinol. Cuando la proteína se hace inestable da lugar a monómeros que dan lugar al depósito de amiloide. El diagnóstico de amiloidosis cardíaca se realiza clásicamente mediante la confirmación histológica de la presencia de amiloide.

La Amiloidosis Hereditaria TTR es una enfermedad autosómica dominante. Las distintas mutaciones (más de 100 descritas hasta el momento) dan lugar a fenotipos diferentes, con una fuerte correlación genotipo-fenotipo. La clínica predominante es neuropática. Sin embargo, el corazón suele estar afectado hasta en un 50-80% de los casos según el tipo de mutación, determinando el pronóstico de la enfermedad. El único tratamiento disponible hasta hace pocos años era el trasplante hepático. A pesar de éste, la enfermedad puede progresar ya que los depósitos de proteína mutada actúan como “captadores” de proteína no mutada. Diversos fármacos que actúan a otros niveles de la cascada de la amiloidogénesis se encuentran en fase de desarrollo. Es difícil determinar el momento óptimo para iniciar el tratamiento antes de que los depósitos sean tan importantes como para provocar clínica significativa. Para responder a esta cuestión sería necesario conocer la cantidad de sustancia amiloide en distintos tejidos a lo largo del tiempo. Sin embargo no es posible obtener biopsias repetidas de una misma localización y la medición seriada en biopsias diferentes no es un método válido ya que se trata de una enfermedad que provoca depósitos parcheados.

La Amiloidosis Senil se caracteriza, a diferencia del resto de tipos de amiloidosis, por una afectación cardíaca casi exclusiva, con el síndrome del túnel del carpo como única manifestación extracardíaca. Se presenta típicamente en varones por encima de los 60 años y es causa de IC con FEVI preservada (ICFE-C), que a su vez es la causa más frecuente de IC en ancianos. La ICFE-C es un síndrome clínico heterogéneo con múltiples causas subyacentes y en la que ningún tratamiento ha conseguido demostrar aumentar la supervivencia. Para el diagnóstico de Amiloidosis Senil se debe demostrar la presencia del amiloide cardíaco y descartar la mutación por TTR. Aunque existen

signos electrocardiográficos y ecocardiográficos que van a favor, el diagnóstico sigue suponiendo un reto y da lugar a que se trate de una entidad infradiagnosticada. El tratamiento se basa en medidas de soporte. Sin embargo, llegar al diagnóstico etiológico de IC por amiloidosis puede condicionar el manejo habitual, limitando y/o evitando ciertas terapias farmacológicas. La aparición de nuevos tratamientos activos en la amiloidosis TTR hereditaria podría convertir la Amiloidosis Senil en una entidad potencialmente tratable. Aunque la BEM proporciona el diagnóstico definitivo, el riesgo asociado de ésta, hace que se prefiera la aproximación no invasiva con diversas técnicas de imagen. Por tanto, la búsqueda de técnicas que faciliten el diagnóstico de esta entidad podría ser de alto interés.

Nuevas técnicas de imagen, como *speckle tracking* o la RMC, han irrumpido recientemente en el campo de las miocardiopatías y se han erigido como una gran ayuda en el diagnóstico de AC. Las secuencias de realce tardío por RMC han sido sólidamente establecidas en la literatura y en la práctica diaria como la forma estándar de evaluar la fibrosis miocárdica, convirtiéndose en una “histología” radiológica del corazón. Sin embargo, en ocasiones el depósito es difuso, como en la AC. El desarrollo reciente de secuencias que recogen mapas paramétricos de señal T1 ha constituido un gran avance, por proporcionar con secuencias de rápida adquisición la información sobre el tiempo T1 de un tejido concreto. Basándose en estos mapas se puede realizar una estimación de lo que ocupa el espacio extracelular, es decir, del volumen extracelular (VEC) de un tejido. Se ha probado que los pacientes que presentan un VEC más alto son aquellos con afectación cardíaca por distintos tipos de amiloide (principalmente AL), postulándose como una forma de cuantificación no invasiva del depósito.

Además, la gammagrafía con Tecnecio ( $^{99m}\text{Tc}$ -DPD) es una prueba no invasiva que se emplea comúnmente para evaluar la presencia de lesiones óseas y está disponible en muchos centros sanitarios. Estudios previos han mostrado como el Tecnecio es captado con una alta sensibilidad en pacientes con depósitos de amiloide TTR y no en el resto de tipos de amiloidosis, con una alta sensibilidad y especificidad.

### **Objetivos.**

- Determinar la prevalencia de Amiloidosis Senil en pacientes ancianos ingresados por ICFE-C, utilizando un protocolo basado en el empleo de una técnica de imagen nuclear, la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD.

- Conocer si el aumento del volumen extracelular (VEC) por RMC permite identificar la presencia de AC y determinar si VEC se correlaciona con el grado de deterioro neurológico en los pacientes con FAP.

### **Métodos.**

- Se incluyeron prospectivamente y de forma consecutiva a todos los pacientes mayores de 60 años de edad ingresados por ICFE-C (LVEF $\geq$ 50%) con hipertrofia ventricular izquierda ( $\geq$ 12mm). A todos los pacientes elegibles se les ofreció la realización de una gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD y se recogieron sus características clínicas, electro y ecocardiográficas. A los pacientes con gammagrafía positiva, se les realizó análisis genético de TTR y se obtuvo confirmación histológica de AC según indicación médica.
- En cuanto a la forma hereditaria de amiloidosis TTR, se incluyeron pacientes procedentes de 5 centros a nivel nacional y se les sometió a un estudio estándar con RMC y mapeo T1 además de a una evaluación neurológica mediante los scores NIS-LL, Norfolk-QOL e índice de Karnofsky. En esta cohorte de pacientes, se definió afectación cardíaca ante la presencia de captación moderada o severa en gammagrafía  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD o hipertrofia ventricular izquierda junto con realce tardío típico de AC en RMC. Se recogieron sus características clínicas, analíticas y de imagen por RMC.

### **Resultados.**

- Se estudiaron 120 pacientes con diagnóstico de ICFE-C (59% mujeres,  $82\pm 8$  años) a los que se les realizó una gammagrafía con Tc-DPD. Un total de 16 pacientes (13,3%; IC del 95%: 7,2 a 19,5) mostró una captación moderada a severa. Ninguno de estos pacientes presentaba mutaciones en TTR. Se realizó BEM en 4 pacientes, confirmando Amiloidosis Senil en todos los casos. No hubo diferencias en edad, sexo, HTA, diabetes, enfermedad coronaria o FA entre los pacientes con gammagrafía positiva y los pacientes con otras formas ICFE-C. Aunque los pacientes con Amiloidosis Senil presentaban valores más altos de NT-proBNP (6467 vs. 3173pg/l;  $p=0,019$ ), troponina I (0,135 vs. 0,025 $\mu\text{g/l}$ ;  $p<0,001$ ), hipertrofia ventricular ( $17\pm 3,4$  vs.  $14\pm 2,5$  mm;  $p=0,001$ ), derrame pericárdico (44% vs. 19%;  $p=0,047$ ) y marcapasos (44% vs. 12%;  $p=0,004$ ), la superposición clínica entre ambos grupos fue alta.



Además, no se produjeron incidentes ni se reportaron eventos adversos relacionados con la gammagrafía.

- Un total de 31 pacientes, portadores de mutación de TTR (19 varones; edad media  $49 \pm 12$  años; 26 con mutación Val30Met) participaron en el segundo trabajo. Cinco pacientes cumplieron criterios de amiloidosis cardíaca (4 determinados por gammagrafía y 1 por RMC). El valor de VEC determinado por RMC estaba aumentado de forma significativa en el subgrupo de pacientes con AC ( $0,490 \pm 0,131$  vs.  $0,289 \pm 0,035$ ;  $p = 0,026$ ). Además, VEC se correlacionó significativamente con la edad ( $R_s = 0,467$ ;  $p = 0,008$ ), el NTproBNP ( $R_s = 0,846$ ;  $p < 0,001$ ), el grosor máximo de hipertrofia ( $R_s = 0,621$ ;  $p < 0,001$ ), la masa del ventrículo izquierdo ( $R_s = 0,685$ ;  $p < 0,001$ ), la FEVI ( $R_s = -0,378$ ,  $p = 0,036$ ), la puntuación NIS-LL ( $R_s = 0,604$ ;  $p = 0,001$ ), Norfolk-QOL ( $R_s = 0,529$ ;  $p = 0,003$ ) y el índice de Karnofsky ( $R_s = -0,517$ ,  $p = 0,004$ ). Un valor de corte de VEC = 0.357 fue diagnóstico de AC con 100% de sensibilidad y especificidad ( $p < 0,001$ ). VEC y NT-proBNP fueron los únicos parámetros cardíacos que se correlacionaron significativamente con las puntuaciones neurológicas.

### **Conclusiones.**

- La Amiloidosis Senil es una entidad actualmente infradiagnosticada y que representa un número significativo de los casos de ICFE-C en mayores de 60 años. Una prueba de imagen no invasiva como la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD que permite diferenciar de forma segura a los pacientes con Amiloidosis Senil es muy útil en la práctica clínica habitual. Un 13,3% de los pacientes con ICFE-C de este estudio presentaron una gammagrafía positiva. Aunque existen características clínicas, electrocardiográficas y ecocardiográficas que deben elevar la sospecha de Amiloidosis Senil, el elevado número de pacientes con ICFE-C causados por Amiloidosis Senil sugiere que esta entidad debe ser considerada de forma rutinaria en todos los pacientes con ICFE-C. Además, nuevos fármacos antiamiloides deben ser evaluados en este grupo de pacientes que en la actualidad carecen de un tratamiento específico.

- Los valores de VEC mediante RMC permiten la identificación de AC en pacientes con Amiloidosis hereditaria por TTR y se correlacionan con el grado de deterioro neurológico. Dado que la AC determina el pronóstico y tratamiento de la enfermedad, esta técnica no invasiva puede convertirse en una herramienta útil para establecer un diagnóstico precoz además de ofrecer la posibilidad de realizar un seguimiento de la afectación cardíaca y extracardíaca.

## CAPÍTULO 6

---

### BIBLIOGRAFÍA

## CAPÍTULO 6. BIBLIOGRAFÍA.

1. García-Pavía P, Tomé-Esteban MT, Rapezzi C. Amiloidosis Cardíaca. También una enfermedad del corazón. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:797-808.
2. Krsnik I, Cabero M, Morillo D, Segovia J, García-Pavía P, Gómez-Bueno M, Salas C. Amiloidosis AL: Experiencia en un hospital terciario. 2005-2013. *Rev Clín Esp*. 2015;215:1-8.
3. García-Pavía P, Avellana P, Bornstein B, Heine-Suñer D, Cobo-Marcos M, Gómez-Bueno M, Segovia J, Alonso-Pulpón LA. Abordaje familiar en la amiloidosis cardíaca hereditaria por transtiretina. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:523-6
4. de Haro-del Moral FJ, Sánchez-Lajusticia A, Gómez-Bueno M, García-Pavía P, Salas-Antón C, Segovia-Cubero J. Papel de la gammagrafía cardíaca con <sup>99m</sup>Tc-DPD en la discriminación del subtipo de amiloidosis cardíaca. *Rev Esp Cardiol*. 2012;65:440-6.
5. Gómez-Bueno M, Segovia J, García-Pavía P, Barceló JM, Krsnik I, Sánchez-Turrión V, Salas C, Alonso-Pulpón L. Amiloidosis cardíaca: la importancia del manejo multidisciplinario. *Rev Esp Cardiol*. 2009;62:698-702.
6. Dangu JN, Anderson LJ, Whelan CJ, Hawkins PN. Cardiac transthyretin amyloidosis. *Heart*. 2012;98:1546-54.
7. Sekijima Y, Wiseman RL, Matteson J, Hammarström P, Miller SR, Sawkar AR, Balch WE, Kelly JW. The biological and chemical basis for tissue-selective amyloid disease. *Cell*. 2005;121:73-85.
8. Zerovnik E. Amyloid-fibril formation. Proposed mechanisms and relevance to conformational disease. *Eur J Biochem*. 2002;269:3362-71.
9. Pattison JS, Sanbe A, Maloyan A, Osinska H, Klevitsky R, Robbins J. Cardiomyocyte expression of a polyglutamine preamyloid oligomer causes heart failure. *Circulation*. 2008;117:2743-51.
10. Sipe JD, Benson MD, Buxbaum JN, Ikeda S, Merlini G, Saraiva MJ, Westermarck P. Nomenclature 2014: Amyloid fibril proteins and clinical classification of the amyloidosis. *Amyloid*. 2014;21:221-4.
11. Falk RH. Diagnosis and management of the cardiac amyloidoses. *Circulation*. 2005;112:2047-60.
12. Planté-Bordeneuve V, Said G. Familial amyloid polyneuropathy. *Lancet Neurol*.

2011;10:1086-97.

13. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med* 2003;349:583–96.

14. Buxbaum J, Tagoe C, Gallo G, Reixach N, French D. The pathogenesis of transthyretin tissue deposition: lessons from transgenic mice. *Amyloid*. 2003;10 Suppl 1:2-6.

15. Ton V-K, Mukherjee M, Judge D.P. Transthyretin cardiac amyloidosis: Pathogenesis, treatments and emerging role in heart failure with preserved ejection fraction. *Clin Med Insights Cardiol*. 2015;8:39-44.

16. Bourgault S, Choi S, Buxbaum JN, Kelly JW, Price JL, Reixach N. Mechanisms of transthyretin cardiomyocyte toxicity inhibition by resveratrol analogs. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;410:707-13.

17. Zhao L, Buxbaum JN, Reixach N. Age-related oxidative modifications of transthyretin modulate its amyloidogenicity. *Biochemistry*. 2013;52:1913-26.

18. Reixach N, Deechongkit S, Jiang X, Kelly JW, Buxbaum JN. Tissue damage in the amyloidoses: Transthyretin monomers and nonnative oligomers are the major cytotoxic species in tissue culture. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:2817-22.

19. Teng MH, Yin JY, Vidal R, Ghiso J, Kumar A, Rabenou R, Shah A, Jacobson DR, Tagoe C, Gallo G, Buxbaum J. Amyloid and nonfibrillar deposits in mice transgenic for wild-type human transthyretin: a possible model for senile systemic amyloidosis. *Lab Invest*. 2001;81:385-96.

20. Andersson K, Olofsson A, Nielsen EH, Svehag SE, Lundgren E. Only amyloidogenic intermediates of transthyretin induce apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;294:309-14.

21. Yi S, Takahashi K, Naito M, Tashiro F, Wakasugi S, Maeda S, Shimada K, Yamamura K, Araki S. Systemic amyloidosis in transgenic mice carrying the human mutant transthyretin (Met30) gene. Pathologic similarity to human familial amyloidotic polyneuropathy, type I. *Am J Pathol*. 1991;138:403-12.

22. Kyle R, Linos A, Beard C, Linke R, Gertz M, O'Fallon W, et al. Incidence and natural history of primary systemic amyloidosis in Olmsted county, Minnesota, 1950 through 1989. *Blood* 1992;79:1817–22.

23. Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A. Amyloidosis. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1999;13:1211-33.

24. Palladini G, Merlini G. Systemic amyloidoses: what an internist should know. *Eur J Intern Med.* 2013;24:729-39.
25. Mishra S, Guan J, Plovie E, Seldin DC, Connors LH, Merlini G, Falk RH, MacRae CA, Liao R. Human amyloidogenic light chain proteins result in cardiac dysfunction, cell death, and early mortality in zebrafish. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013;305:H95-103.
26. Gertz MA, Dispenzieri A, Sher T. Pathophysiology and treatment of cardiac amyloidosis. *Nat Rev Cardiol.* 2015;12:91-102.
27. Brenner DA, Jain M, Pimentel DR, Wang B, Connors LH, Skinner M, Apstein CS, Liao R. Human amyloidogenic light chains directly impair cardiomyocyte function through an increase in cellular oxidant stress. *Circ Res.* 2004;94:1008-10.
28. Comenzo RL, Zhang Y, Martinez C, Osman K, Herrera GA. The tropism of organ involvement in primary systemic amyloidosis: contributions of Ig V(L) germ line gene use and clonal plasma cell burden. *Blood.* 2001;98:714-20.
29. Perfetti V, Casarini S, Palladini G, Vignarelli MC, Klersy C, Diegoli M, Ascari E, Merlini G. Analysis of V(lambda)-J(lambda) expression in plasma cells from primary (AL) amyloidosis and normal bone marrow identifies 3r (lambdall) as a new amyloid-associated germline gene segment. *Blood.* 2002;100:948-53.
30. Abraham RS, Geyer SM, Price-Troska TL, Allmer C, Kyle RA, Gertz MA, Fonseca R. Immunoglobulin light chain variable (V) region genes influence clinical presentation and outcome in light chain-associated amyloidosis (AL). *Blood.* 2003;101:3801-8.
31. Perfetti V, Palladini G, Casarini S, Navazza V, Rognoni P, Obici L, Invernizzi R, Perlini S, Klersy C, Merlini G. The repertoire of  $\lambda$  light chains causing predominant amyloid heart involvement and identification of a preferentially involved germline gene, IGLV1-44. *Blood.* 2012;119:144-50.
32. Dubrey SW, Hawkins PN, Falk RH. Amyloid diseases of the heart: assessment, diagnosis, and referral. *Heart.* 2011;97:75-84.
33. Saraiva MJ. Sporadic cases of hereditary systemic amyloidosis. *N Engl J Med.* 2002;346:1818-9.
34. Quarta CC, Obici L, Guidalotti PL, Pieroni M, Longhi S, Perlini S, Verga L, Merlini G, Rapezzi C. High  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD myocardial uptake in a patient with apolipoprotein AI-related amyloidotic cardiomyopathy. *Amyloid.* 2013;20:48-51.
35. Pinney JH, Whelan CJ, Petrie A, Dungu J, Banypersad SM, Sattianayagam P, Wechalekar A, Gibbs SD, Venner CP, Wassef N, McCarthy CA, Gilbertson JA,

Rowczenio D, Hawkins PN, Gillmore JD, Lachmann HJ. Senile systemic amyloidosis: clinical features at presentation and outcome. *J Am Heart Assoc.* 2013;2(2):e000098.

36. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Offord JR, Dispenzieri A, Katzmann JA, Melton LJ 3rd. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med.* 2006;354:1362-9.

37. Ando Y, Coelho T, Berk JL, Cruz MW, Ericzon BG, Ikeda S, Lewis WD, Obici L, Planté-Bordeneuve V, Rapezzi C, Said G, Salvi F. Guideline of transthyretin-related hereditary amyloidosis for clinicians. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:31.

38. Palladini G, Verga L, Corona S, Obici L, Morbini P, Lavatelli F, et al. Diagnostic performance of immuno-electron microscopy of abdominal fat in systemic amyloidoses. *Amyloid* 2010; 17: 59-60.

39. Foli A, Palladini G, Caporali R, Verga L, Morbini P, Obici L, Russo P, Sarais G, Donadei S, Montecucco C, Merlini G. The role of minor salivary gland biopsy in the diagnosis of systemic amyloidosis: results of a prospective study in 62 patients. *Amyloid.* 2011;18 Suppl 1:80-2.

40. Gafni J, Sohar E. Rectal biopsy for the diagnosis of amyloidosis. *Am J Med Sci.* 1960;240:332-6.

41. Kyle RA, Spencer RJ, Dahlin DC. Value of rectal biopsy in the diagnosis of primary systemic amyloidosis. *Am J Med Sci.* 1966;251:501-6.

42. Bodin K, Ellmerich S, Kahan MC, Tennent GA, Loesch A, Gilbertson JA, Hutchinson WL, Mangione PP, Gallimore JR, Millar DJ, Minogue S, Dhillon AP, Taylor GW, Bradwell AR, Petrie A, Gillmore JD, Bellotti V, Botto M, Hawkins PN, Pepys MB. Antibodies to human serum amyloid P component eliminate visceral amyloid deposits. *Nature.* 2010;468:93-7.

43. Banypersad SM, Moon JC, Whelan C, Hawkins PN, Wechalekar AD. Updates in cardiac amyloidosis: a review. *J Am Heart Assoc.* 2012;1:e000364.

44. Hawkins PN, Lavender JP, Pepys MB. Evaluation of systemic amyloidosis by scintigraphy with 123I-labeled serum amyloid P component. *N Engl J Med.* 1990;323:508-13.

45. Falk RH, Quarta CC, Dorbala S. How to image cardiac amyloidosis. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2014;7:552-62.

46. Lachmann HJ, Booth DR, Booth SE, Bybee A, Gilbertson JA, Gillmore JD, Pepys MB, Hawkins PN. Misdiagnosis of hereditary amyloidosis as AL (primary) amyloidosis.

N Engl J Med. 2002;346:1786-91.

47. Vrana JA. Classification of amyloidosis by laser microdissection and mass spectrometry-based proteomic analysis in clinical biopsy specimens. *Blood*. 2009;114:4957-9.

48. Mahmood S, Gilbertson JA, Rendell N, Whelan CJ, Lachmann HJ, Wechalekar AD, Hawkins PN, Gillmore JD. Two types of amyloid in a single heart. *Blood*. 2014;124:3025-7.

49. Ariyaratne V, Steiner I, Hájková P, Khadem A, Kvasnicka J, Apiyasawat S, Spodick DH. The association of atrial tachyarrhythmias with isolated atrial amyloid disease: preliminary observations in autopsied heart specimens. *Cardiology*. 2009;113:132-7.

50. Rapezzi C, Merlini G, Quarta CC, Riva L, Longhi S, Leone O, Salvi F, Ciliberti P, Pastorelli F, Biagini E, Coccolo F, Cooke RM, Bacchi-Reggiani L, Sangiorgi D, Ferlini A, Cavo M, Zamagni E, Fonte ML, Palladini G, Salinaro F, Musca F, Obici L, Branzi A, Perlini S. Systemic cardiac amyloidoses: disease profiles and clinical courses of the 3 main types. *Circulation*. 2009;120:1203-12.

51. Rapezzi C, Quarta CC, Riva L, Longhi S, Gallelli I, Lorenzini M, Ciliberti P, Biagini E, Salvi F, Branzi A. Transthyretin-related amyloidoses and the heart: a clinical overview. *Nat Rev Cardiol*. 2010;7:398-408.

52. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB; American Heart Association; Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; Council on Epidemiology and Prevention. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2006;113:1807-16.

53. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, Dubourg O, Kühl U, Maisch B, McKenna WJ, Monserrat L, Pankuweit S, Rapezzi C, Seferovic P, Tavazzi L, Keren A. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2008;29:270-6.

54. Quarta CC, Kruger JL, Falk RH. Cardiac amyloidosis. *Circulation*. 2012;126:e178-

82.

55. Ruberg FL, Berk JL. Transthyretin (TTR) cardiac amyloidosis. *Circulation*. 2012;126:1286-300.

56. Nencetti S, Rossello A, Orlandini E. Tafamidis (Vyndaqel): a light for FAP patients. *Chem Med Chem*. 2013;8:1617-9.

57. Ueda M, Ando Y. Recent advances in transthyretin amyloidosis therapy. *Transl Neurodegener*. 2014;3:19.

58. Sattianayagam PT, Hahn AF, Whelan CJ, Gibbs SD, Pinney JH, Stangou AJ, Rowczenio D, Pflugfelder PW, Fox Z, Lachmann HJ, Wechalekar AD, Hawkins PN, Gillmore JD. Cardiac phenotype and clinical outcome of familial amyloid polyneuropathy associated with transthyretin alanine 60 variant. *Eur Heart J*. 2012;33:1120-7.

59. Buades Reinés J, Ripoll Vera T, Uson Martín M, Andréu Serra H, Company Campins MM, Diéguez Millán JM, Gallego Lezaun C, Raya Cruz M. Epidemiology of transthyretin-associated familial amyloid polyneuropathy in the Majorcan area: Son Llätzer Hospital descriptive study. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9:29.

60. Almeida MR, Alves IL, Terazaki H, Ando Y, Saraiva MJ. Comparative studies of two transthyretin variants with protective effects on familial amyloidotic polyneuropathy: TTR R104H and TTR T119M. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;270:1024-8.

61. Merlini G, Planté-Bordeneuve V, Judge DP, Schmidt H, Obici L, Perlini S, Packman J, Tripp T, Grogan DR. Effects of tafamidis on transthyretin stabilization and clinical outcomes in patients with non-Val30Met transthyretin amyloidosis. *J Cardiovasc Transl Res*. 2013;6:1011-20.

62. Rapezzi C, Quarta CC, Obici L, Perfetto F, Longhi S, Salvi F, Biagini E, Lorenzini M, Grigioni F, Leone O, Cappelli F, Palladini G, Rimessi P, Ferlini A, Arpesella G, Pinna AD, Merlini G, Perlini S. Disease profile and differential diagnosis of hereditary transthyretin-related amyloidosis with exclusively cardiac phenotype: an Italian perspective. *Eur Heart J*. 2013;34:520-8.

63. Adams D. Recent advances in the treatment of familial amyloid polyneuropathy. *Ther Adv Neurol Disord*. 2013;6:129-39.

64. Buxbaum J, Jacobson DR, Tagoe C, Alexander A, Kitzman DW, Greenberg B, Thaneemit-Chen S, Lavori P. Transthyretin V122I in African Americans with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:1724-5.



65. Jacobson D, Tagoe C, Schwartzbard A, Shah A, Koziol J, Buxbaum J. Relation of clinical, echocardiographic and electrocardiographic features of cardiac amyloidosis to the presence of the transthyretin V122I allele in older African-American men. *Am J Cardiol.* 2011;108:440-4.
66. Pomerance A. Senile cardiac amyloidosis. *Br Heart J.* 1965;27:711-8.
67. Cornwell GG 3rd, Murdoch WL, Kyle RA, Westermark P, Pitkänen P. Frequency and distribution of senile cardiovascular amyloid. A clinicopathologic correlation. *Am J Med.* 1983;75:618-23.
68. Tanskanen M, Peuralinna T, Polvikoski T, Notkola IL, Sulkava R, Hardy J, Singleton A, Kiuru-Enari S, Paetau A, Tienari PJ, Myllykangas L. Senile systemic amyloidosis affects 25% of the very aged and associates with genetic variation in alpha2-macroglobulin and tau: a population-based autopsy study. *Ann Med.* 2008;40:232-9.
69. Ruberg FL, Miller EJ. Nuclear tracers for transthyretin cardiac amyloidosis: time to bone up?. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2013;6:162-4.
70. Kristen AV, Haufe S, Schonland SO, Hegenbart U, Schnabel PA, Röcken C, Hardt S, Lohse P, Ho AD, Haberkorn U, Dengler TJ, Altland K, Katus HA. Skeletal scintigraphy indicates disease severity of cardiac involvement in patients with senile systemic amyloidosis. *Int J Cardiol.* 2013;164:179-84.
71. Fine NM, Arruda-Olson AM, Dispenzieri A, Zeldenrust SR, Gertz MA, Kyle RA, Swiecicki PL, Scott CG, Grogan M. Yield of noncardiac biopsy for the diagnosis of transthyretin cardiac amyloidosis. *Am J Cardiol.* 2014;113:1723-7.
72. Gertz MA, Comenzo R, Falk RH, Fermand JP, Hazenberg BP, Hawkins PN, Merlini G, Moreau P, Ronco P, Santhorawala V, Sezer O, Solomon A, Gâteaux G. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours, France, 18-22 April 2004. *Am J Hematol.* 2005;79:319-28.
73. Cyrille NB, Goldsmith J, Alvarez J, Maurer MS. Prevalence and prognostic significance of low QRS voltage among the three main types of cardiac amyloidosis. *Am J Cardiol.* 2014;114:1089-93.
74. Carroll JD, Gaasch WH, McAdam KP. Amyloid cardiomyopathy: characterization by a distinctive voltage/mass relation. *Am J Cardiol.* 1982;49:9-13.

75. Dzung J, Sattianayagam PT, Whelan CJ, et al. The electrocardiographic features associated with cardiac amyloidosis of variant transthyretin Isoleucine 122 (V122I) type in Afro-Caribbean patients. *Am Heart J* 2012;164:72e9.
76. Quarta CC, Solomon SD, Uraizee I, Kruger J, Longhi S, Ferlito M, Gagliardi C, Milandri A, Rapezzi C, Falk RH. Left ventricular structure and function in transthyretin-related versus light-chain cardiac amyloidosis. *Circulation*. 2014;129:1840-9.
77. Tendler A, Helmke S, Teruya S, Alvarez J, Maurer MS. The myocardial contraction fraction is superior to ejection fraction in predicting survival in patients with AL cardiac amyloidosis. *Amyloid*. 2015;22:61-6.
78. Phelan D, Collier P, Thavendiranathan P, Popović ZB, Hanna M, Plana JC, Marwick TH, Thomas JD. Relative apical sparing of longitudinal strain using two-dimensional speckle-tracking echocardiography is both sensitive and specific for the diagnosis of cardiac amyloidosis. *Heart*. 2012;98:1442-8.
79. Maceira AM, Joshi J, Prasad SK, Moon JC, Perugini E, Harding I, Sheppard MN, Poole-Wilson PA, Hawkins PN, Pennell DJ. Cardiovascular magnetic resonance in cardiac amyloidosis. *Circulation*. 2005;111:186-93.
80. Robbers LF, Baars EN, Brouwer WP, Beek AM, Hofman MB, Niessen HW, van Rossum AC, Marcu CB. T1 mapping shows increased extracellular matrix size in the myocardium due to amyloid depositions. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012;5:423-6.
81. Perugini E, Rapezzi C, Piva T, Leone O, Bacchi-Reggiani L, Riva L, Salvi F, Lovato L, Branzi A, Fattori R. Non-invasive evaluation of the myocardial substrate of cardiac amyloidosis by gadolinium cardiac magnetic resonance. *Heart*. 2006;92:343-9.
82. Syed IS, Glockner JF, Feng D, Araoz PA, Martinez MW, Edwards WD, Gertz MA, Dispenzieri A, Oh JK, Bellavia D, Tajik AJ, Grogan M. Role of cardiac magnetic resonance imaging in the detection of cardiac amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010;3:155-64.
83. Vogelsberg H, Mahrholdt H, Deluigi CC, Yilmaz A, Kispert EM, Greulich S, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U. Cardiovascular magnetic resonance in clinically suspected cardiac amyloidosis: noninvasive imaging compared to endomyocardial biopsy. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:1022-30.
84. Karamitsos TD, Piechnik SK, Bannyersad SM, Fontana M, Ntusi NB, Ferreira VM, Whelan CJ, Myerson SG, Robson MD, Hawkins PN, Neubauer S, Moon JC. Noncontrast T1 mapping for the diagnosis of cardiac amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6:488-97.

85. Fontana M, Banypersad SM, Treibel TA, Maestrini V, Sado DM, White SK, Pica S, Castelletti S, Piechnik SK, Robson MD, Gilbertson JA, Rowczenio D, Hutt DF, Lachmann HJ, Wechalekar AD, Whelan CJ, Gillmore JD, Hawkins PN, Moon JC. Native T1 mapping in transthyretin amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014;7:157-65.
86. Flett AS, Hayward MP, Ashworth MT, Hansen MS, Taylor AM, Elliott PM, McGregor C, Moon JC. Equilibrium contrast cardiovascular magnetic resonance for the measurement of diffuse myocardial fibrosis: preliminary validation in humans. *Circulation*. 2010;122:138-44.
87. Sado DM, Flett AS, Banypersad SM, White SK, Maestrini V, Quarta G, Lachmann RH, Murphy E, Mehta A, Hughes DA, McKenna WJ, Taylor AM, Hausenloy DJ, Hawkins PN, Elliott PM, Moon JC. Cardiovascular magnetic resonance measurement of myocardial extracellular volume in health and disease. *Heart*. 2012;98:1436-41.
88. Banypersad SM, Sado DM, Flett AS, Gibbs SD, Pinney JH, Maestrini V, Cox AT, Fontana M, Whelan CJ, Wechalekar AD, Hawkins PN, Moon JC. Quantification of myocardial extracellular volume fraction in systemic AL amyloidosis: an equilibrium contrast cardiovascular magnetic resonance study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2013;6:34-9.
89. Fontana M, Banypersad SM, Treibel TA, Maestrini V, Sado D, White SK, Bulluck H, Herrey AS, Hawkins PN, Moon J. AL and ATTR cardiac amyloid are different: native T1 mapping and ECV detect different biology. Poster presented at the 17<sup>th</sup> Annual SCMR Scientific Sessions, New Orleans, LA, USA. 16-19 January 2014.
90. Maceira AM, Prasad SK, Hawkins PN, Roughton M, Pennell DJ. Cardiovascular magnetic resonance and prognosis in cardiac amyloidosis. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2008;10:54.
91. White JA, Kim HW, Shah D, Fine N, Kim KY, Wendell DC, Al-Jaroudi W, Parker M, Patel M, Gwady-Sridhar F, Judd RM, Kim RJ. CMR imaging with rapid visual T1 assessment predicts mortality in patients suspected of cardiac amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014;7:143-56.
92. Banypersad SM, Fontana M, Maestrini V, Sado DM, Captur G, Petrie A, Piechnik SK, Whelan CJ, Herrey AS, Gillmore JD, Lachmann HJ, Wechalekar AD, Hawkins PN, Moon JC. T1 mapping and survival in systemic light-chain amyloidosis. *Eur Heart J*. 2015;36:244-51.
93. Dungu JN, Valencia O, Pinney JH, Gibbs SD, Rowczenio D, Gilbertson JA,

Lachmann HJ, Wechalekar A, Gillmore JD, Whelan CJ, Hawkins PN, Anderson LJ. CMR-based differentiation of AL and ATTR cardiac amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014;7:133-42.

94. Hawkins PN, Lavender JP, Pepys MB. Evaluation of systemic amyloidosis by scintigraphy with 123I-labeled serum amyloid P component. *N Engl J Med*. 1990;323:508-13.

95. Perugini E, Guidalotti PL, Salvi F, Cooke RM, Pettinato C, Riva L, Leone O, Farsad M, Ciliberti P, Bacchi-Reggiani L, Fallani F, Branzi A, Rapezzi C. Noninvasive etiologic diagnosis of cardiac amyloidosis using  $^{99m}\text{Tc}$ -3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylic acid scintigraphy. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46:1076-84.

96. Bokhari S, Castaño A, Pozniakoff T, Deslisle S, Latif F, Maurer MS.  $^{99m}\text{Tc}$ -pyrophosphate scintigraphy for differentiating light-chain cardiac amyloidosis from the transthyretin-related familial and senile cardiac amyloidoses. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2013;6:195-201.

97. Kristen AV, Scherer K, Buss S, aus dem Siepen F, Haufe S, Bauer R, Hinderhofer K4, Giannitsis E, Hardt S, Haberkorn U, Katus HA, Steen H. Noninvasive risk stratification of patients with transthyretin amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014;7:502-10.

98. Rapezzi C, Quarta CC, Guidalotti PL, Longhi S, Pettinato C, Leone O, Ferlini A, Salvi F, Gallo P, Gagliardi C, Branzi A. Usefulness and limitations of  $^{99m}\text{Tc}$ -3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylic acid scintigraphy in the aetiological diagnosis of amyloidotic cardiomyopathy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38:470-8.

99. Hutt DF, Quigley AM, Page J, Hall ML, Burniston M, Gopaul D, Lane T, Whelan CJ, Lachmann HJ, Gillmore JD, Hawkins PN, Wechalekar AD. Utility and limitations of 3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylic acid scintigraphy in systemic amyloidosis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2014;15:1289-98.

100. Quarta CC, Guidalotti PL, Longhi S, Pettinato C, Leone O, Ferlini A, Biagini E, Grigioni F, Bacchi-Reggiani ML, Lorenzini M, Milandri A, Branzi A, Rapezzi C. Defining the diagnosis in echocardiographically suspected senile systemic amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2012;5:755-8.

101. Rapezzi C, Quarta CC, Guidalotti PL, Pettinato C, Fanti S, Leone O, Ferlini A, Longhi S, Lorenzini M, Reggiani LB, Gagliardi C, Gallo P, Villani C, Salvi F. Role of  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD scintigraphy in diagnosis and prognosis of hereditary transthyretin-related cardiac amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2011;4:659-70.

102. Longhi S, Guidalotti PL, Quarta CC, Gagliardi C, Milandri A, Lorenzini M, Potena L, Leone O, Bartolomei I, Pastorelli F, Salvi F, Rapezzi C. Identification of TTR-related subclinical amyloidosis with <sup>99m</sup>Tc-DPD scintigraphy. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014;7:531-2.
103. Dorbala S, Vangala D, Semer J, Strader C, Bruyere JR Jr, Di Carli MF, Moore SC, Falk RH. Imaging cardiac amyloidosis: a pilot study using <sup>18</sup>F-florbetapir positron emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;41:1652-62.
104. Kristen AV, Dengler TJ, Hegenbart U, Schonland SO, Goldschmidt H, Sack FU, Voss F, Becker R, Katus HA, Bauer A. Prophylactic implantation of cardioverter-defibrillator in patients with severe cardiac amyloidosis and high risk for sudden cardiac death. *Heart Rhythm*. 2008;5:235-40.
105. Low PA. Autonomic neuropathies. *Curr Opin Neurol*. 2002;15:605-9.
106. Rubinow A, Skinner M, Cohen AS. Digoxin sensitivity in amyloid cardiomyopathy. *Circulation*. 1981;63:1285-8.
107. Pollak A, Falk RH. Left ventricular systolic dysfunction precipitated by verapamil in cardiac amyloidosis. *Chest*. 1993;104:618-20.
108. Gertz MA, Skinner M, Connors LH, Falk RH, Cohen AS, Kyle RA. Selective binding of nifedipine to amyloid fibrils. *Am J Cardiol*. 1985;55:1646.
109. Brignole M, Auricchio A, Baron-Esquivias G, Bordachar P, Boriani G, Breithardt OA, Cleland J, Deharo JC, Delgado V, Elliott PM, Gorenek B, Israel CW, Leclercq C, Linde C, Mont L, Padeletti L, Sutton R, Vardas PE. The Task Force on cardiac pacing and resynchronization therapy of the European Society of Cardiology (ESC). Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association (EHRA). 2013 ESC Guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2014;67:58.
110. Bellavia D, Pellikka PA, Abraham TP, Al-Zahrani GB, Dispenzieri A, Oh JK, Espinosa RE, Scott CG, Miyazaki C, Miller FA. 'Hypersynchronisation' by tissue velocity imaging in patients with cardiac amyloidosis. *Heart*. 2009;95:234-40.
111. Swiecicki PL, Edwards BS, Kushwaha SS, Dispenzieri A, Park SJ, Gertz MA. Left ventricular device implantation for advanced cardiac amyloidosis. *J Heart Lung Transplant*. 2013;32:563-8.
112. Barreiros AP, Post F, Hoppe-Lotichius M, Linke RP, Vahl CF, Schäfers HJ, Galle PR, Otto G. Liver transplantation and combined liver-heart transplantation in patients with familial amyloid polyneuropathy: a single-center experience. *Liver Transpl*. 2010;16:314-23.

113. Sattianayagam PT, Gibbs SD, Pinney JH, Wechalekar AD, Lachmann HJ, Whelan CJ, Gilbertson JA, Hawkins PN, Gillmore JD. Solid organ transplantation in AL amyloidosis. *Am J Transplant*. 2010;10:2124-31.
114. Hamour IM, Lachmann HJ, Goodman HJ, Petrou M, Burke MM, Hawkins PN, Banner NR. Heart transplantation for homozygous familial transthyretin (TTR) V122I cardiac amyloidosis. *Am J Transplant*. 2008;8:1056-9.
115. Dubrey SW, Burke MM, Hawkins PN, Banner NR. Cardiac transplantation for amyloid heart disease: the United Kingdom experience. *J Heart Lung Transplant*. 2004;23:1142-53.
116. Coelho T, Adams D, Silva A, Lozeron P, Hawkins PN, Mant T, Perez J, Chiesa J, Warrington S, Tranter E, Munisamy M, Falzone R, Harrop J, Cehelsky J, Bettencourt BR, Geissler M, Butler JS, Sehgal A, Meyers RE, Chen Q, Borland T, Hutabarat RM, Clausen VA, Alvarez R, Fitzgerald K, Gamba-Vitalo C, Nochur SV, Vaishnav AK, Sah DW, Gollob JA, Suhr OB. Safety and efficacy of RNAi therapy for transthyretin amyloidosis. *N Engl J Med*. 2013;369:819-29.
117. Coelho T, Maia LF, Martins da Silva A, Waddington Cruz M, Planté-Bordeneuve V, Lozeron P, Suhr OB, Campistol JM, Conceição IM, Schmidt HH, Trigo P, Kelly JW, Labaudinière R, Chan J, Packman J, Wilson A, Grogan DR. Tafamidis for transthyretin familial amyloid polyneuropathy: a randomized, controlled trial. *Neurology*. 2012;79:785-92.
118. Maurer MS, Grogan DR, Judge DP, Mundayat R, Packman J, Lombardo I, Quyyumi AA, Aarts J, Falk RH. Tafamidis in transthyretin amyloid cardiomyopathy: effects on transthyretin stabilization and clinical outcomes. *Circ Heart Fail*. 2015;8:519-26.
119. Sekijima Y, Dendle MA, Kelly JW. Orally administered diflunisal stabilizes transthyretin against dissociation required for amyloidogenesis. *Amyloid*. 2006;13:236-49.
120. Tojo K, Sekijima Y, Kelly JW, Ikeda S. Diflunisal stabilizes familial amyloid polyneuropathy-associated transthyretin variant tetramers in serum against dissociation required for amyloidogenesis. *Neurosci Res*. 2006;56:441-9.
121. Berk JL, Suhr OB, Obici L, Sekijima Y, Zeldenrust SR, Yamashita T, Heneghan MA, Gorevic PD, Litchy WJ, Wiesman JF, Nordh E, Corato M, Lozza A, Cortese A, Robinson-Papp J, Colton T, Rybin DV, Bisbee AB, Ando Y, Ikeda S, Seldin DC, Merlini G, Skinner M, Kelly JW, Dyck PJ. Diflunisal Trial Consortium. Repurposing diflunisal for familial amyloid polyneuropathy: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2013;310:2658-67.
122. Berk JL, Suhr OB, Sekijima Y, Yamashita T, Heneghan M, Zeldenrust SR, Ando

Y, Ikeda S, Gorevic P, Merlini G, Kelly JW, Skinner M, Bisbee AB, Dyck PJ, Obici L; Familial Amyloidosis Consortium. The Diflunisal Trial: study accrual and drug tolerance. *Amyloid*. 2012;19 Suppl 1:37-8.

123. Castaño A, Helmke S, Alvarez J, Delisle S, Maurer MS. Diflunisal for ATTR cardiac amyloidosis. *Congest Heart Fail*. 2012;18:315-9.

124. Kolstoe SE, Mangione PP, Bellotti V, Taylor GW, Tennent GA, Deroo S, Morrison AJ, Cobb AJ, Coyne A, McCammon MG, Warner TD, Mitchell J, Gill R, Smith MD, Ley SV, Robinson CV, Wood SP, Pepys MB. Trapping of palindromic ligands within native transthyretin prevents amyloid formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:20483-8.

125. Obici L, Cortese A, Lozza A, Lucchetti J, Gobbi M, Palladini G, Perlini S, Saraiva MJ, Merlini G. Doxycycline plus tauroursodeoxycholic acid for transthyretin amyloidosis: a phase II study. *Amyloid*. 2012;19 Suppl 1:34-6.

126. Komajda M, Lam CS. Heart failure with preserved ejection fraction: a clinical dilemma. *Eur Heart J*. 2014;35:1022-32.

127. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE Jr, Drazner MH, Fonarow GC, Geraci SA, Horwich T, Januzzi JL, Johnson MR, Kasper EK, Levy WC, Masoudi FA, McBride PE, McMurray JJ, Mitchell JE, Peterson PN, Riegel B, Sam F, Stevenson LW, Tang WH, Tsai EJ, Wilkoff BL; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:e147-239. 5.

128. Li J, Becher PM, Blankenberg S, Westermann D. Current treatment of heart failure with preserved ejection fraction: should we add life to the remaining years or add years to the remaining life?. *Cardiol Res Pract*. 2013;2013:130724.

129. Butler J, Fonarow GC, Zile MR, Lam CS, Roessig L, Schelbert EB, Shah SJ, Ahmed A, Bonow RO, Cleland JG, Cody RJ, Chioncel O, Collins SP, Dunnmon P, Filippatos G, Lefkowitz MP, Marti CN, McMurray JJ, Misselwitz F, Nodari S, O'Connor C, Pfeffer MA, Pieske B, Pitt B, Rosano G, Sabbah HN, Senni M, Solomon SD, Stockbridge N, Teerlink JR, Georgiopoulou VV, Gheorghiade M. Developing therapies for heart failure with preserved ejection fraction: a current state and future directions. *JACC Heart Fail* 2014;2:97-112.

130. Senni M, Paulus WJ, Gavazzi A, Fraser AG, Díez J, Solomon SD, Smiseth OA, Guazzi M, Lam CS, Maggioni AP, Tschöpe C, Metra M, Hummel SL, Edelmann F,

Ambrosio G, Stewart Coats AJ, Filippatos GS, Gheorghiade M, Anker SD, Levy D, Pfeffer MA, Stough WG, Pieske BM. New strategies for heart failure with preserved ejection fraction: the importance of targeted therapies for heart failure phenotypes. *Eur Heart J*. 2014;35:2797-815.

131. Anguita Sánchez M, Ojeda Pineda S. Medical treatment of heart failure with preserved left ventricular ejection fraction. *Rev Esp Cardiol*. 2006;6 Suppl F:53-8.

132. Borlaug BA, Paulus WJ. Heart failure with preserved ejection fraction: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Eur Heart J*. 2011;32:670-9.

133. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Køber L, Lip GY, Maggioni AP, Parkhomenko A, Pieske BM, Popescu BA, Rønnevik PK, Rutten FH, Schwitter J, Seferovic P, Stepinska J, Trindade PT, Voors AA, Zannad F, Zeiher A; ESC Committee for Practice Guidelines. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2012;33:1787-847.

134. Paulus WJ, Tschöpe C, Sanderson JE, Rusconi C, Flachskampf FA, Rademakers FE, Marino P, Smiseth OA, De Keulenaer G, Leite-Moreira AF, Borbély A, Edes I, Handoko ML, Heymans S, Pezzali N, Pieske B, Dickstein K, Fraser AG, Brutsaert DL. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2007;28:2539-50.

135. Pitt B, Pfeffer MA, Assmann SF, Boineau R, Anand IS, Claggett B, Clausell N, Desai AS, Diaz R, Fleg JL, Gordeev I, Harty B, Heitner JF, Kenwood CT, Lewis EF, O'Meara E, Probstfield JL, Shaburishvili T, Shah SJ, Solomon SD, Sweitzer NK, Yang S, McKinlay SM; TOPCAT Investigators. Spironolactone for heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med*. 2014;370:1383-92.

136. Mohammed SF, Mirzoyev SA, Edwards WD, Dogan A, Grogan DR, Dunlay SM, Roger VL, Gertz MA, Dispenzieri A, Zeldenrust SR, Redfield MM. Left ventricular amyloid deposition in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *JACC Heart Fail* 2014;2:113-22.

137. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J. CKD-EPI (Chronic Kidney Disease



Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150:604-12.

138. Sokolow M, Lyon T. Ventricular complex in left ventricular hypertrophy as obtained by unipolar precordial and limb leads. *American Heart Journal* 1949;37:161-86.

139. DePace NL, Colby J, Hakki AH, Manno B, Horowitz LN, Iskandrian AS. Poor R wave progression in the precordial leads: clinical implications for the diagnosis of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1983;2:1073-9.

140. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ. Chamber Quantification Writing Group; American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee; European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification. *J Am Soc Echocardiogr* 2005;18:1440-63.

141. McFarland TM, Alam M, Goldstein S, Pickard SD and Stein PD. Echocardiographic diagnosis of left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1978;57:1140-4.

142. Hodkinson HM, Pomerance A. The clinical significance of senile cardiac amyloidosis: a prospective clinico-pathological study. *Q J Med* 1977;46:381-7.

143. Lie JT, Hammond PI. Pathology of the senescent heart: anatomic observations on 237 autopsy studies of patients 90 to 105 years old. *Mayo Clin Proc* 1988;63:552-64.

144. Buck FS, Koss MN, Sherrod AE, Wu A, Takahashi M. Ethnic distribution of amyloidosis: an autopsy study. *Mod Pathol* 1989;2:372-7.

145. Jacobson DR, Pastore RD, Yaghoubian R, Kane I, Gallo G, Buck FS, Buxbaum JN. Variant-sequence transthyretin (isoleucine 122) in late-onset cardiac amyloidosis in black Americans. *N Engl J Med* 1997;336:466-73.

146. Ackermann EJ, Guo S, Booten S, Alvarado L, Benson M, Hughes S, Monia BP. Clinical development of an antisense therapy for the treatment of transthyretin-associated polyneuropathy. *Amyloid*. 2012;19:43-4.

147. Elliott PM, Anastakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P, Hagege AA, Lafont A, Limongelli G, Mahrholdt H, McKenna WJ, Mogensen J, Nihoyannopoulos P, Nistri S, Pieper PG, Pieske B, Rapezzi C, Rutten FH, Tillmanns C, Watkins H. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2014;35:2733-79.

148. Freeman R, Wieling W, Axelrod FB, Benditt DG, Benarroch E, Biaggioni I, Cheshire WP, Chelimsky T, Cortelli P, Gibbons CH, Goldstein DS, Hainsworth R, Hilz MJ, Jacob G, Kaufmann H, Jordan J, Lipsitz LA, Levine BD, Low PA, Mathias C, Raj SR, Robertson D, Sandroni P, Schatz I, Schondorff R, Stewart JM, van Dijk JG. Consensus statement on the definition of orthostatic hypotension, neurally mediated syncope and the postural tachycardia syndrome. *Clinical Autonomic Research*. 2011;21:69-72.
149. Dyck PJ, Davies JL, Litchy WJ, O'Brien PC. Longitudinal assessment of diabetic polyneuropathy using a composite score in the Rochester Diabetic Neuropathy Study cohort. *Neurology*. 1997;49:229-239.
150. Vinik EJ, Hayes RP, Oglesby A, Bastyr E, Barlow P, Ford-Molvik SL, Vinik AI. The development and validation of the Norfolk QOL-DN, a new measure of patients' perception of the effects of diabetes and diabetic neuropathy. *Diabetes Technology Therapeutics*. 2005;7:497-508.
151. Karnofsky DA, Abelmann WH, Craver LF, Burchenal JH. The use of the nitrogen mustards in the palliative treatment of carcinoma. With particular reference to bronchogenic carcinoma. *Cancer*. 1948;1:634-656.
152. Schulz-Menger J, Bluemke DA, Bremerich J, Flamm SD, Fogel MA, Friedrich MG, Kim RJ, von Knobelsdorff-Brenkenhoff F, Kramer CM, Pennell DJ, Plein S, Nagel E. Standardized image interpretation and post processing in cardiovascular magnetic resonance: Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR) board of trustees task force on standardized post processing. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*. 2013;15:35.
153. Messroghli DR, Radjenovic A, Kozerke S, Higgins DM, Sivananthan MU, Ridgway JP. Modified Look-Locker inversion recovery (MOLLI) for high-resolution T1 mapping of the heart. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2004; 52:141-146.
154. García-Pavía P, Muñoz-Beamud F, Casasnovas C on behalf of GETPAF-TTR. Recommendations regarding diagnosis and treatment of transthyretin Familial amyloid polyneuropathy. Document from the Spanish Group for the Study and Treatment of the transthyretin Familial amyloid polyneuropathy (GETPAF-TTR). *Medicina Clinica (Barcelona)*. 2015 (in press).
155. Dyck PJ, Litchy WJ, Daube JR, Harper CM, Dyck PJ, Davies J, O'Brien PC. Individual attributes versus composite scores of nerve conduction abnormality: sensitivity, reproducibility, and concordance with impairment. *Muscle Nerve*.

2003;27:202–210.

156. Okamoto S, Zhao Y, Lindqvist P, Backman C, Ericzon BG, Wijayatunga P, Henein MY, Suhr OB. Development of cardiomyopathy after liver transplantation in Swedish hereditary transthyretin amyloidosis (ATTR) patients. *Amyloid: Journal of Protein Folding Disorders*. 2011;18:200-205.

157. Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, Lacy MQ, Burritt MF, Therneau TM, McConnell JP, Litzow MR, Gastineau DA, Tefferi A, Inwards DJ, Micallef IN, Ansell SM, Porrata LF, Elliott MA, Hogan WJ, Rajkumar SV, Fonseca R, Greipp PR, Witzig TE, Lust JA, Zeldenrust SR, Snow DS, Hayman SR, McGregor CG, Jaffe AS. Prognostication of survival using cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood*. 2004; 104:1881-1887.

158. Palladini G, Campana C, Klersy C, Balduini A, Vadacca G, Perfetti V, Perlini S, Obici L, Ascari E, d'Eril GM, Moratti R, Merlini G. Serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide is a sensitive marker of myocardial dysfunction in AL amyloidosis. *Circulation*. 2003;107:2440-2445.

159. Damy T, Deux JF, Moutereau S, Guendouz S, Mohty D, Rappeneau S, Guellich A, Hittinger L, Loric S, Lefaucheur JP, Plante-Bordeneuve V. Role of natriuretic peptide to predict cardiac abnormalities in patients with hereditary transthyretin amyloidosis. *Amyloid: Journal of Protein Folding Disorders*. 2013;20:212-220.

160. Ruberg FL, Maurer MS, Judge DP, Zeldenrust S, Skinner M, Kim AY, Falk RH, Cheung KN, Patel AR, Pano A, Packman J, Grogan DR. Prospective evaluation of the morbidity and mortality of wild-type and V122I mutant transthyretin amyloid cardiomyopathy: the Transthyretin Amyloidosis Cardiac Study (TRACS). *American Heart Journal*. 2012;164:222-228.e1.

161. Benson MD, Teague SD, Kovacs R, Feigenbaum H, Jung J, Kincaid JC. Rate of Progression of Transthyretin Amyloidosis. *American Journal of Cardiology*. 2011;108:285-289.

162. Campbell-Washburn AE, Price AN, Ellmerich S, Simons JP, Al-Shawi R, Kalber TL, Ghatrora R, Hawkins PN, Moon JC, Ordidge RJ, Pepys MB, Lythgoe MF. Monitoring systemic amyloidosis using MRI measurements of the extracellular volume fraction. *Amyloid: Journal of Protein Folding Disorders*. 2013;20:93-98.

